

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

WESLEY DE LIMA OLIVEIRA

META-ANÁLISE DOS EFEITOS DA ATRAZINA NA MORTALIDADE DE ANIMAIS

DOIS VIZINHOS

2023

WESLEY DE LIMA OLIVEIRA

META-ANÁLISE DOS EFEITOS DA ATRAZINA NA MORTALIDADE DE ANIMAIS
Meta-analysis of the effects of atrazine on animal mortality

Trabalho de conclusão de curso de Especialização apresentado como requisito para obtenção do título de Especialização em Biologia Molecular – Habilitação Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Dra. Nédia de Castilhos Ghisi.

Coorientadora: Dra. Thais F. Mendonça Mota.

DOIS VIZINHOS

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

WESLEY DE LIMA OLIVEIRA

META-ANÁLISE DOS EFEITOS DA ATRAZINA NA MORTALIDADE DE ANIMAIS

Trabalho de conclusão de curso de Especialização apresentado como requisito para obtenção do título de Especialização em Biologia Molecular – Habilitação Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Dra. Nédia de Castilhos Ghisi.

Coorientadora: Dra. Thais F. Mendonça Mota.

Data de aprovação: 23/Fevereiro/2023

Natália Ketrin Almeida de Oliveira Mocelin
Doutora
Fundação Oswaldo Cruz.

Aliciane de Almeida Roque
Doutora
Universidade Federal do Paraná

Simone Neumann Wendt – Membro Suplente
Doutora
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

DOIS VIZINHOS

2023

Dedico este trabalho de pesquisa à minha família e amigos, em especial ao meu amigo Nelson Orlandini que foi uma fonte inesgotável de apoio durante todo o processo. Obrigado a todos por tudo.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus que fez com que meus objetivos fossem alcançados, mesmo quando eu achava que não fosse consegui-los.

Gostaria de agradecer a Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), em especial ao campus de Dois Vizinhos que ofereceu essa pós-graduação em Biologia Molecular Aplicada à Biotecnologia.

A todos da coordenação, em especial à professora Dra. Betty Cristiane Kuhn que desde o início do curso foi sempre solícita, amiga dos alunos e muito compreensiva. Agradecer ao professor Dr. Luciano Medina Macedo que com certeza foi muito necessário nesse curso, sempre auxiliando os alunos e professores.

Agradeço a professora Dra. Flávia Regina Oliveira de Barros e Dra. Fernanda Ferrari que foram muito importantes no auxílio da formação e no desenvolvimento teórico do trabalho de conclusão.

Meu muito obrigado a todos os professores do curso, que sempre nos apresentaram ótimos conteúdos, de forma instigante, criativa e didática. Só tenho a agradecer-los por toda atenção, dedicação ao curso e aos alunos.

Não poderia deixar de agradecer a minha orientadora Dra. Nédia de Castilhos Ghisi que desde quando lecionou sua disciplina no curso já chamou minha atenção para a sua linha de pesquisa e da forma como era feita. Agradeço por todo apoio, suporte e confiança.

A minha coorientadora Dra. Thais Fernandes Mendonça Mota que desde sempre abraçou o projeto e foi muito importante nessa pesquisa, me auxiliando do início ao fim, agradeço por toda paciência, pelo aprendizado, compreensão e gentileza.

Ao meu irmão Rangel David de Lima Oliveira que foi muito importante no desenvolvimento do projeto, me ajudando mesmo sem ter muito tempo devido ao trabalho e faculdade.

A colega Ana Paula da Silva que também auxiliou no desenvolvimento do projeto, obrigado por todo o suporte.

A minha família, em especial minha irmã Welyda Ingrid de Lima Oliveira e minha mãe Irene Rozimá de Lima que me apoiaram e me incentivaram no curso desde o início.

A todos os colegas do curso e aos meus amigos que me motivaram durante a trajetória.

E não poderia deixar de agradecer ao meu amigo Dr. Nelson Donizete Orlandini que me deu todo apoio durante o desenvolvimento da pesquisa e me ajudou em diversos momentos.

E por fim agradecer a todos que direta ou indiretamente estiveram comigo nessa jornada, meu muito obrigado!

“Jamais considere seus estudos como uma obrigação, mas como uma oportunidade invejável para aprender a conhecer a beleza libertadora do intelecto para seu próprio prazer pessoal e para proveito da comunidade à qual seu futuro trabalho pertencer”.
Albert Einstein (CALAPRICE, A., 2010).

RESUMO

A atrazina (ATZ) é um dos herbicidas mais utilizados no mundo, devido à sua alta acessibilidade e eficácia no controle de ervas daninhas, sendo bastante utilizado em plantação de milho e cana-de-açúcar. Aplicado diretamente no solo ou pulverizado em plantações, também é frequentemente detectada em águas superficiais e subterrâneas devido a sua longa meia-vida; assim, pode se acumular progressivamente em compartimentos ambientais e afetar organismos não-alvo. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito letal do herbicida ATZ em diferentes espécies animais, com base em uma meta-análise, abordando estudos com concentrações ambientais do herbicida. A busca foi realizada nas bases de dados Web of Science, Scopus e PubMed e após o término do processo de seleção, 49 conjuntos de dados foram gerados e analisados. O efeito global indicou aumento significativo na taxa de mortalidade registrada para animais expostos a concentrações ambientais de ATZ em comparação com o controle no experimento (animais não expostos). A segregação dos animais em categorias taxonômicas mostrou que anfíbios, peixes e insetos apresentaram maiores taxas de mortalidade após a exposição à substância investigada. A presente meta-análise indicou que quanto aos estágios de vida, larvas e juvenis eram mais susceptíveis do que indivíduos adultos e embriões expostos a ATZ. Organismos que foram expostos a ATZ por imersão tiveram um aumento na mortalidade. Os animais submetidos à formulação comercial e pura também apresentaram maior taxa de mortalidade. Assim, a ATZ, pode aumentar a taxa de mortalidade em animais, mas esse efeito é dependente da sensibilidade da espécie, estágio de vida e via de exposição. Este é o primeiro estudo meta-analítico avaliando a taxa de mortalidade após a exposição a ATZ em várias espécies animais.

Palavras-chave: atrazina; toxicidade; sobrevivência; mortalidade.

ABSTRACT

Atrazine (ATZ) is one of the most widely used herbicides in the world, due to its high accessibility and effectiveness in controlling weeds, being widely used in corn and sugarcane plantations. Applied directly to the soil or sprayed on crops, it is also frequently detected in surface and groundwater due to its long half-life; thus, it can progressively accumulate in environmental compartments and affect non-target organisms. The aim of the present study is to evaluate the lethal effects of ATZ in different animal species, based on a meta-analytical review addressing studies with environmental concentrations of ATZ. The search was carried out in the Web of Science, Scopus and PubMed databases and after the selection process was completed, 49 datasets were generated and analyzed. The global effect indicated a significant increase in the mortality rate recorded for animals exposed to ambient concentrations of ATZ compared to the control in the experiment (non-exposed animals). The segregation of animals into taxonomic categories showed that amphibians, fish and insects had higher mortality rates after exposure to the investigated substance. The present meta-analysis indicated that in the life stages, larval and juvenile animals were more susceptible than adult individuals and embryos exposed to different concentrations of ATZ. Organisms that were exposed to ATZ by immersion showed an increase in mortality. The animals submitted to the commercial and pure formulation also had a higher mortality rate. Thus, ATZ can indeed increase the mortality rate in animals, but it depends on the sensitivity of the species, the life stage and, the way of exposure. This is the first meta-analytical study evaluating the mortality rate after ATZ exposure in various animal species.

Keywords: atrazine; toxicity; survival; mortality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Tipos de Agrotóxicos	16
Figura 2 – Estrutura química da atrazina	17
Figura 3 – Contaminação de águas e solo pela atrazina	20
Figura 4 – Atrazina e toxicidade em animais	24
Figura 5 – Fluxograma PRISMA 2009	31
Figura 6 – Forest plot de tamanhos de efeito observados	37
Figura 7 – Categorização dos resultados por organismo	39
Figura 8 – Categorização dos resultados por grupo de animais	41
Figura 9 – Categorização dos resultados em fase de vida	43
Figura 10 – Categorização dos resultados com base na via de exposição	45
Figura 11 – Categorização dos resultados com base na formulação adotada ..	47
Figura 12 – Gráficos de regressão	49
Figura 13 – Funnel plot	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Conjunto de Dados	32
Tabela 2 - Resumo dos resultados da meta-análise	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATZ	Atrazina
ERO	Espécies Reativas do Oxigênio
EPA	Agência de Proteção Ambiental
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IC	Intervalo de Confiança
US	Estados Unidos
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

C	Carbono
H	Hidrogênio
Cl	Cloro
N	Nitrogênio
mg	Miligrama
µg	Micrograma
L	Litro
°C	Grau Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	Objetivos gerais	18
2.2	Objetivos específicos	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1	Atrazina: estudos e discussões	19
3.2	Atrazina: exposição e consequências	21
3.3	Atrazina e a toxicidade em animais	23
3.4	Atrazina e a mortalidade em animais	25
4	MATERIAS E MÉTODOS.....	27
4.1	Processos de identificação e seleção de estudos	27
4.2	Análise de dados	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1	Resumo dos resultados da pesquisa.....	30
5.2	Análise do efeito letal da atrazina em animais.....	36
5.3	Categorizando os resultados.....	38
5.3.1	Organismos	38
5.3.2	Fase de vida.....	42
5.3.3	Rota de exposição	44
5.3.4	Formulação.....	46
5.3.5	Relação entre o tamanho dos efeitos e o tempo/concentração/dose de exposição.....	49
5.4	Viés de Publicação	50
6	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são compostos químicos que tem como função matar, obstruir ou controlar qualquer crescimento de pragas que possam danificar uma cultura, dessa forma, no decorrer do século passado, os agrotóxicos auxiliaram a população global, aumentando seus rendimentos agrícolas através do controle desses organismos que prejudicavam seus cultivos, assim, foi abundantemente aplicados como uma estratégia simples, rápida e eficaz para minimizar a perda de colheitas e assim, melhorar o valor nutricional (PARRA-ARROYO L., *et al*, 2022). Na agricultura moderna os agrotóxicos são considerados uma peça vital por desempenharem um importante papel na manutenção e produtividade agrícola (JALLOW, M.F.A., *et al*, 2017).

Formado por um grupo de substâncias, os agrotóxicos exercem um papel significativo na redução de perdas de produtos agrícolas, no controle de pragas e doenças, assim como auxiliam no melhoramento e na qualidade dos alimentos, de acordo com o organismo a que se direcionam, essas substâncias podem ser classificadas em inseticidas, herbicidas, fungicidas, bactericidas, acaricida, nematicida, entre outras denominações (figura 1) (TUDI, M., *et al*, 2021).

Os agrotóxicos são utilizados na agricultura, silvicultura, parques, campos, instalações industriais e educacionais, sendo aplicados no controle de roedores, insetos, pragas e destruição de ervas daninhas (MARICAN, A; DURÁN-LARA, E.F., 2018). Todavia, a dependência de agrotóxicos acarreta em efeitos adversos de longo prazo tanto no meio ambiente quanto na saúde humana, nesse caso, podendo provocar defeitos congênitos, câncer ou até levar a morte, sendo a maioria dos casos ocorrendo em países em desenvolvimento (JALLOW, M.F.A., *et al*, 2017). Além de poder provocar anormalidades crônicas em humanos, devido sua alta toxicidade, agrotóxicos podem também desencadear severos prejuízos ao meio ambiente e a biodiversidade (MARICAN, A; DURÁN-LARA, E.F; 2018).

Figura 1 – Tipos de agrotóxicos.

Tipos de praga		Tipos de defensivos agrícolas
	Inseto	Inseticida
	Ácaro	Acaricida
	Fungo	Fungicida
	Nematoide	Nematicida
	Planta daninha	Herbicida
	Bactéria	Bactericida

Fonte: BRUNA J., 2017.

Entre os agrotóxicos utilizados, os herbicidas revolucionaram o controle de ervas daninhas nas últimas décadas por fornecerem uma alternativa eficaz, econômica e menos laboriosa do que o controle mecânico. No entanto, os herbicidas enfrentam alguns desafios, como a resistência de ervas daninhas a herbicidas, assim como, questões ambientais e de segurança (HEAP I., 2014). Cada vez mais utilizados na produção agrícola, o mercado de herbicidas vem crescendo rapidamente, contudo, seu uso vem provocando graves danos aos seres humanos e ao nosso ecossistema, como a morte de alguns animais, assim, há uma carência urgente em herbicidas ecológicos que não provoquem danos ambientais (ZHANG X., *et al.* 2019).

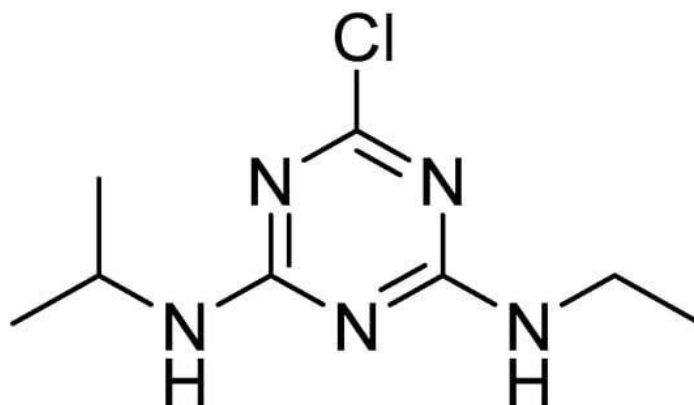
Dentre os herbicidas, a atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) (ATZ - figura 2) pertence à família das s-triazinas, que inclui a simazina e cianazina e sua fórmula molecular é $C_8H_{14}ClN_5$. Trata-se de um composto sólido, de coloração branca e aspecto pulverulento que se dissolve facilmente em solventes orgânicos (HE H., *et al.*, 2019).

Para utilização recomenda-se que seja diluído em água e aplicado através de pulverizadores, porém é instável em alta temperatura, e seu ponto de fusão está entre 173 – 175 °C, sua solubilidade em água é de 33mg/L a 20°C (HE H., *et al.*, 2019).

A ATZ foi registrada desde 1958 e devido à sua alta acessibilidade e eficácia no controle de ervas daninhas sem danificar a cultura, logo se tornou um dos herbicidas mais utilizados no mundo, sendo o principal utilizado em plantação de milho e cana-de-açúcar (BRODEUR, J. C; 2013). Além do mais, é o segundo herbicida mais usado nos Estados Unidos (WANG S., *et al*, 2022). Todavia, é frequentemente detectada em águas superficiais e subterrâneas devido a sua longa meia-vida de aproximadamente 30 a 100 dias (HE H., *et al*, 2019).

No Brasil o estado de São Paulo se destaca por ser um dos maiores produtores de cana-de-açúcar, isso faz com que haja uma real possibilidade de contaminação da ATZ nos rios do estado (MARTINS, C. X., *et al.*, 2014)

Figura 2. Estrutura química da atrazina.



Fonte: Hong J., *et al*, 2022.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito letal do herbicida ATZ em diferentes espécies animais, por meio de uma meta-análise, contemplando estudos com concentrações ambientalmente relevantes do herbicida.

2.2 Objetivos Específicos

Para alcançar o objetivo utilizamos as seguintes estratégias:

I- Avaliar a diferença de mortalidade entre os grupos experimentais e controles e espera-se uma maior mortalidade no grupo experimental;

II- Verificar se a sensibilidade dos animais expostos a ATZ é dependente da espécie e do estágio da vida;

III- Avaliar se a formulação e a via de exposição da ATZ promovem diferentes taxas de mortalidade;

IV- Verificar se aumentando a concentração/dose e o tempo de exposição aumentam a taxa de mortalidade.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

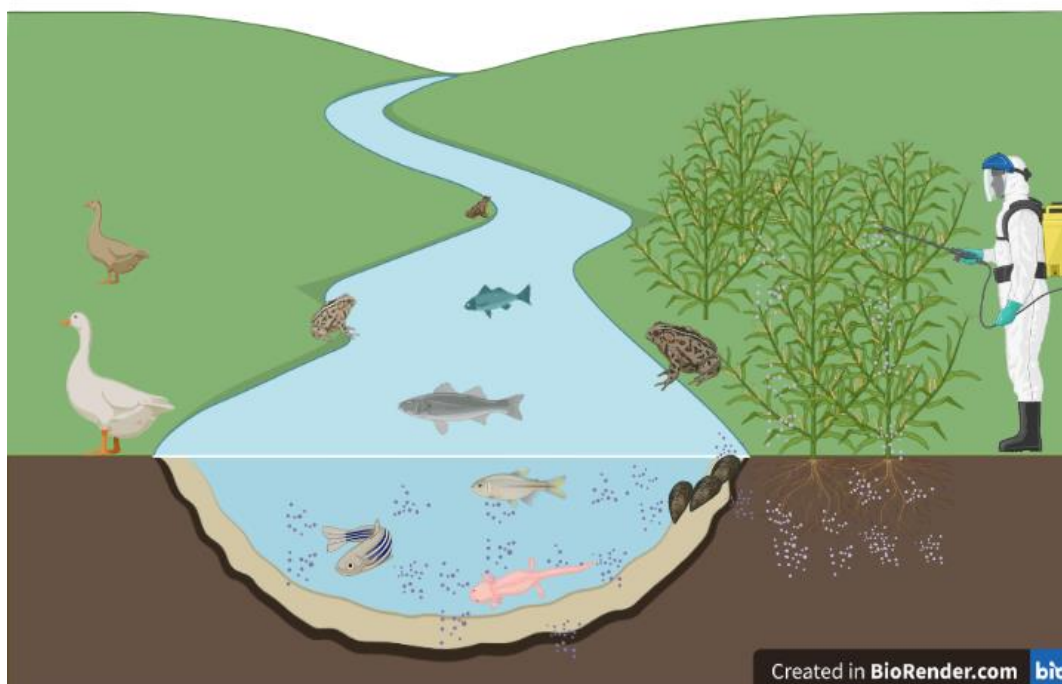
3.1 Atrazina: estudos e discussões

Como a ATZ é aplicada na agricultura, seus resíduos não são encontrados apenas na lavoura, mas também no leite e na carne, e embora não seja considerada altamente tóxica para os seres humanos, uma exposição a longo prazo pode afetar a saúde humana (HONG J., *et al.*, 2022). A ATZ pode atuar desregulando o sistema endócrino, levando a uma série de alterações patológicas e anormalidades reprodutivas, além de ser um potencial carcinógeno, podendo provocar tumores e cânceres, como o câncer de mama e ovário, bem como leucemia e linfomas, por esses motivos, a ATZ foi proibida na União Europeia em 2003, porém, continua sendo utilizado na maior parte do mundo (HONG J., *et al.*, 2022).

Em regiões como Ásia e América as concentrações máximas permitidas de ATZ em água potável variam de 0,1 a 3 $\mu\text{g/L}^{-1}$. No Brasil, no estado do Ceará, foram monitoradas concentrações de ATZ entre 7 a 15 $\mu\text{g/L}^{-1}$ na água do reservatório, no entanto, concentrações muito mais altas, ($> 500 \mu\text{g/L}^{-1}$) já foram encontradas no ambiente (RIMAYI. C., *et al.*, 2018).

Ao longo dos anos, uma discussão em relação a segurança da ATZ começou a crescer, pois evidências demonstraram um potencial de contaminação em águas superficiais e subterrâneas, podendo levar a problemas de saúde, como imunotoxicidade e desregulação endócrina (BRODEUR, J. C., 2013).

Diversos estudos relataram a presença de agrotóxicos em sistemas de abastecimento de água potável e esse crescente aumento pode ser devido à falta de vigilância e o uso generalizado de agrotóxicos, que vem causando contaminações de águas e solo (figura 3), cuja toxicidade, persistência e bioacumulação afetam a saúde humana e meio ambiente (AMÉZQUITA-MARROQUÍN, C. P., 2020).

Figura 3 – Contaminação de águas e solo pela atrazina

Fonte: Desenho elaborado pelo autor (Biorender, 2023).

Por possuir alto poder residual, estabilidade química relativa e ecotoxicidade, a ATZ vem sendo cada vez mais estudada para avaliação de sua toxicidade do meio ambiente e nos seres humanos (HE H., *et al.*, 2019). No entanto, os estudos que avaliam a segurança da ATZ são altamente controversos. Por exemplo, em um estudo realizado com peixinhos gordos, a exposição a ATZ não aumentou a mortalidade em relação ao grupo controle (DIONNE E., *et al.*, 2021). Em outro estudo, onde utilizaram peixinhos cabeça de carneiro, a exposição a ATZ também não aumentou a mortalidade (BRAIN, R. A., ANDERSON J. C., HANSON M. L., 2021). No entanto, em um estudo onde avaliaram filhotes de salmão expostos a ATZ, foi apresentado 100% de mortalidade no grupo experimental, enquanto não houve mortalidade no grupo controle (MOORE, A., *et al.*, 2008).

3.2 Atrazina: exposição e consequências

Por ser solúvel em água e ser frequentemente detectada em águas superficiais e subterrâneas a exposição a ATZ é comum através da ingestão de alimentos ou água contaminada, e essa exposição tem diversos efeitos adversos a saúde, como a inibição da glicólise, interrupção do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal no cérebro, inibição da produção do hormônio luteinizante e diminuição da produção de testosterona em ratos e humanos e além disso, pode desmasculinizar e feminilizar machos enquanto interrompe a função ovariana em ratos fêmeas (WANG S., *et al.*, 2022).

Considerada um contaminante potente devido as suas características químicas, a ATZ já foi detectada no plasma, urina, e tecidos animais de ratos expostos (SAALFELD, G. Q., 2019). Em estudo prévio conduzido durante a estação de pulverização, detectou-se a presença de metabólitos de ATZ em mais de 80% dos aplicadores participantes do estudo (PERRY, M. J., *et al.*, 2001). Além disso, a ATZ também foi detectada na urina de crianças de famílias não agrícolas, evidenciando a ocorrência de exposições não ocupacionais (ROWE A.M., BRUNDAGE K.M., BARNETT J.B., 2008).

Alguns estudos avaliaram os efeitos da ATZ em sistemas reprodutivos de mamíferos e observaram que o herbicida causa danos à espermatogênese, diminuição e a motilidade dos espermatozoides no epidídimo e alterações morfológicas nas células de Sertoli e Leydig (SAALFELD, G. Q., 2019).

A ATZ pode causar desregulação nas atividades endócrinas que incluem efeitos estrogênicos e antiestrogênicos e alterações do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Essas atividades endócrinas da ATZ demonstraram causar alterações no desenvolvimento, morfologia e função das gônadas, mudanças na razão sexual para o fenótipo feminino, diminuição do sucesso reprodutivo e alterações de crescimento e metamorfose em girinos (BRODEUR J.C., *et al.*, 2013)

A exposição à ATZ está associada a distúrbios neurológicos, como doença de Parkinson e alterações comportamentais e cognitivas (WANG S., *et al.*, 2022). Em um estudo epidemiológico foi demonstrado que trabalhadores agrícolas correm um maior risco de desenvolver depressão e ansiedade comparados a outros trabalhadores (TORSKE M. O., *et al.*, 2016), um outro estudo que analisou peixe-zebra fêmea observou que a exposição a ATZ pode induzir alterações significativas nas vias de

neurotransmissão, como a serotonina, que está associada a depressão e ansiedade em humanos (WANG S., *et al.*, 2022).

Além dos efeitos reprodutivos e distúrbios neurológicos, outros estudos demonstraram que a ATZ induz e altera os principais biomarcadores de estresse oxidativo, diminui a eficiência do sistema antioxidante e das enzimas associadas, levando a níveis elevados de espécies reativas de oxigênio (ERO) (SAALFELD, G. Q., 2019).

Um estudo examinou os efeitos nocivos da exposição da ATZ no sistema reprodutor masculino, usando espermatozoides de cabra (*Capra hircus*), as cabras machos foram alimentadas com ração padrão suplementada com ATZ durante 6 meses e a exposição à ATZ prejudicou a morfologia, a viabilidade, o potencial de membrana mitocondrial e a composição lipídica celular dos espermatozoides. Essas alterações podem, por sua vez, levar à redução da capacidade de fertilização dos espermatozoides expostos (KOMSKY-ELBAZ, A., *et al.*, 2019).

Alguns animais, como os herbívoros podem bioacumular resíduos de agrotóxicos organoclorados, como a ATZ em particular, após consumir água contaminada ou serem expostos através do solo ou do ar inalado e depois passá-los para outros animais e humanos através do leite bovino (URSELER N., *et al.*, 2022).

Como herbicida lipofílico, a ATZ pode se bioacumular em tecidos ricos em gordura, como tecido adiposo, cérebro, fígado ou rins (GILL, J.P.S., *et al.*, 2020). Os seres humanos, em geral, são expostos à ATZ principalmente quando consomem água poluída ou alimentos ricos em gordura, como peixe, carne bovina e laticínios (AVANCINI, R.M., *et al.*, 2013). A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) categorizou a ATZ como composto cancerígeno (SINGH, S. *et al.*, 2018). Relatórios toxicológicos do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos observaram uma redução no peso fetal e no coração, assim como distúrbios urinários e dos membros em crianças das quais as mães foram expostas à água contaminada com ATZ (URSELER N., *et al.*, 2022).

3.3 Atrazina e a toxicidade em animais

A ATZ é tóxica pois está ligada à desregulação endócrina, câncer, distúrbios reprodutivos, defeitos congênitos e função alterada do sistema nervoso (HORZMANN K.A., *et al.*, 2018). Os efeitos toxicológicos da ATZ em animais estão incorporados na deformidade do órgão reprodutivo, carcinogenicidade, hipoevolutismo, hip imunidade e assim por diante e está provado que a ATZ e seus metabólitos afetam o sistema nervoso central através do controle do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal e então afetam o desenvolvimento do sistema reprodutivo (WANG H., *et al.*, 2015).

Nos últimos anos, a segurança da ATZ gerou muita controvérsia, pois evidências demonstraram a contaminação generalizada das águas superficiais e subterrâneas e o potencial da ATZ para causar desregulação endócrina e toxicidade em mamíferos, peixes e anfíbios (BRODEUR J.C., *et al.*, 2013) (figura 4).

O perfil de ecotoxicidade da ATZ já foi caracterizado e uma avaliação de risco abrangente e probabilística concluiu que efeitos diretos em animais aquáticos são muito improváveis, todavia, já foi relatado que a ATZ afeta o desenvolvimento sexual e a diferenciação gonadal no sapo africano, *Xenopus laevis*, e resultados de diferentes estudos têm sido inconsistentes em relação a sua toxicidade (KLOAS W., *et al.*, 2009).

De acordo com Rohr, J. R; *et al* (2006), a ATZ, possui influência ecológica global e sua ampla distribuição pode ser uma das possíveis razões para o declínio da população global de anfíbios, pois, sua toxicidade aguda e os potenciais mecanismos toxicológicos no sistema imunológico de rãs ainda não são bem compreendidos. Já o autor Rimayi, C. (2018) acrescenta que a causa da diminuição da população de anfíbios se dá pela presença generalizada de ATZ no ambiente.

Estudos anteriores avaliaram que a toxicidade da exposição à ATZ em anfíbios está associada a metamorfose anormal e feminização, já em roedores, ATZ interrompe o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. Embora essas evidências sugiram que ATZ é um desregulador endócrino, o mecanismo de ação ainda está sob investigação. Além disso, ATZ parece modificar o epigenoma e altera os níveis de microRNA (HORZMANN K.A., *et al.*, 2018).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA US) avaliou riscos e concluiu que a ATZ representa um potencial risco para peixes estuarinos/marinheiros, particularmente sob condições de exposição crônica e embora esteja entre os herbicidas mais utilizados, informações sobre a toxicidade da ATZ nos

estágios de vida iniciais de peixes estuarinos/marinhos ainda são relativamente limitadas (BRAIN R.A., ANDERSON J.C., HANSON M.L., 2021).

Assim foi realizado um estudo com o peixinho cabeça de carneiro (*Cyprinodon variegatus*) e foi revelado que sob condições agudas, a toxicidade da ATZ em estágio inicial pode variar entre leve a moderadamente tóxica (BRAIN R.A., ANDERSON J.C., HANSON M.L., 2021).

Um estudo avaliou a toxicidade aguda e crônica da ATZ em uma espécie de minhocas (*Eisenia fetida*) para estudar a toxicidade da ATZ em solos, pois esses animais são um dos organismos mais sensíveis aos poluentes do solo, além de ter uma rápida reprodução, são modelos para detectar toxicidade de vários agrotóxicos, o estudo mostrou que a ATZ causou estresse oxidativo, dano lipídico e de DNA às minhocas (Li X., *et al.*, 2023).

Figura 4 – Atrazina e toxicidade em animais



Created in BioRender.com 

Fonte: Desenho elaborado pelo autor (Biorender, 2023).

Um bioensaio de toxicidade de moluscos juvenis da espécie *Mercenaria mercenaria* foi analisado e demonstrou sensibilidade dessa espécie em comparação com outros organismos de teste comumente usados a ATZ, os resultados do ensaio aquoso crônico indicaram efeitos letais e subletais (tamanho reduzido da casca) em altas concentrações de ATZ. (LAWTON J.C., *et al.*, 2006).

Além disso, estudos epidemiológicos relacionaram toxicidade da exposição à ATZ à diminuição da qualidade do sêmen em homens, ao aumento do risco de câncer de mama em mulheres que vivem em áreas com média ou alta exposição ao herbicida, irregularidades do ciclo menstrual e aumento da prevalência de bebês pequenos para a idade gestacional (HORZMANN K.A., *et al.*, 2018).

3.4 Atrazina e a mortalidade em animais

Além da toxicidade a exposição da ATZ aumenta a mortalidade de algumas espécies de animais. Um estudo investigou a toxicidade de ATZ em *Bufo gargarizans*, uma espécie de sapo bastante comum na China, os girinos foram tratados com doses de ATZ de 0,1, 1, 10 e 100 µg/L por 85 dias, os resultados mostraram que a mortalidade dos sapos aumentou drasticamente (SAI, L., *et al.*, 2015).

Em níveis ambientais de ATZ, investigadores relataram um aumento da mortalidade em várias espécies de rãs em concentrações de 3-150 µg/L curiosamente, os girinos expostos a 3 µg/L exibiram maiores taxas de mortalidade do que aqueles expostos a 30 e 100 µg/L (ZAYA, R.M., *et al.*, 2011).

A ATZ também encurtou o processo de maturação dos oócitos de *Xenopus laevis* e causou uma maior taxa de mortalidade durante a embriogênese inicial (GARCÍA-ESPIÑEIRA M, TEJEDA-BENITEZ L, OLIVERO-VERBEL J., 2018).

Foi testado ATZ no desenvolvimento de salamandras manchadas (*Ambystoma maculatum*) e sua alga verde simbiótica *Oophila amblystomatis*., foi observado que a exposição à ATZ afetou as salamandras manchadas diretamente, causando patologias e mortalidade em embriões, e indiretamente, eliminando suas algas simbióticas (OLVIER, H.M., MOON, B.R., 2010).

Como os anfíbios são bastante suscetíveis à dessecação, é esperado que as mudanças provocadas por ATZ na conservação de água, possa aumentar o risco de mortalidade desses animais (ROHR J.R, MCCOY K.A., 2010).

Foi observado que a ATZ é leve a moderadamente tóxica ao peixinho cabeça de carneiro (*Cyprinodon variegatus*) sob condições agudas, após o término do teste de 96h, 90% de mortalidade foi observada entre os organismos expostos à maior concentração média medida testada (22 mg/L), taxas de mortalidade de 5%, 15%, 35% e 90% foram observadas entre os peixes expostos à concentrações de ATZ a 4,6, 7,6, 13 e 22 mg/L, respectivamente (BRAIN, R. A., ANDERSON J. C., HANSON M. L., 2021).

Em um estudo que avaliou o desenvolvimento e mortalidade de larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostas à ATZ após manejo do estresse, verificou que houve mortalidade significativa das larvas pós-estresse em 24h da exposição a ATZ (CHISTE, B.M., *et al.*, 2021).

No entanto, em um estudo onde avaliaram o copépodes (*Tigriopus japonicus*), não foi observada mortalidade com 20 mg/L de ATZ, que é a concentração máxima dissolvida, mas o tempo de desenvolvimento foi significativamente afetado. Foi sugerido que o fato da presença da carapaça relativamente robusta do copépodes funciona como uma barreira contra a ATZ (YOON, D.S., *et al.*, 2019).

Para preencher essa lacuna do conhecimento, realizamos uma meta-análise sobre os efeitos da ATZ na mortalidade de animais. A meta-análise é uma ferramenta utilizada para fornecer uma estimativa global e robusta do resultado de vários estudos, utilizando uma integração sistemática, para assim formar conclusões estatisticamente confiáveis (MALAKOOTIAN *et al.*, 2020; DA SILVA A. P., *et al.*, 2022).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Processos de identificação e seleção de estudos

Para o desenvolvimento da pesquisa realizou-se um levantamento bibliográfico nas bases de dados Web of Science, Scopus e Pubmed, por serem bases de dados de literatura científica mundial. Artigos que possuíam dados sobre os efeitos da ATZ em animais foram selecionados para realização da meta-análise. Scripts booleanos como #1 TS (Topic Search) = “atrazine AND toxicity” e #2 TS= “atrazine AND survival OR mortality” foram utilizados para identificar os artigos focados em investigar as taxas de mortalidade e sobrevivência em animais expostos a ATZ. No total foram obtidos 965 artigos e a pesquisa abrangeu estudos publicados entre 1965 a 2022.

Todos os títulos e resumos obtidos inicialmente foram lidos, com o intuito de identificar publicações relevantes para a pesquisa. Os critérios de seleção adotados foram os seguintes (i) artigos que abordaram ATZ; e (ii) artigos que abordassem mortalidade e/ou sobrevivência com ATZ. Apenas os estudos que se encaixaram nesses dois critérios de elegibilidade foram lidos e analisados na íntegra para fins de extração de dados.

Em seguida, foram adotados novos critérios de refinamento para a elaboração da matriz de dados, excluindo-se os estudos que: (1) avaliaram ATZ juntamente com outros agrotóxicos; (2) não apresentaram o número de indivíduos por grupo; (3) não apresentaram dados sobre o grupo controle; (4) apenas determinado LC 50 e/ou LD 50; (5) que utilizaram concentração de ATZ superior a 0,6 mg/L⁻¹. A concentração máxima de ATZ (0,6 mg/L⁻¹) foi determinada após uma longa pesquisa na literatura. Concentrações ecologicamente relevantes são aquelas próximas ou abaixo da concentração ambiental estabelecida pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA). Historicamente a concentração ambiental esperada para ATZ é 0,5 mg/L⁻¹, mas concentrações maiores foram registradas regularmente em lagoas e valas agrícolas (ROHR J.R, MCCOY K.A., 2010). Assim, o limite de 0,6 mg/L⁻¹ foi estabelecido para dados de letalidade com base em concentrações ambientais, esse foi o valor máximo considerado para essa meta-análise.

Os artigos selecionados precisavam apresentar dados, de pelo menos um grupo controle e um grupo experimental para ser incluído nessa meta-análise.

Seguindo esses critérios e após leitura do material foram selecionados 33 artigos para a meta-análise. Foram extraídas informações desses artigos para montagem dos dados, foram coletados dados como: grupo animal, espécie, organismo, estágio da vida, exposição, formulação, concentração, exposição, quantidade de animais vivos no grupo controle, quantidade de animais mortos no grupo controle, quantidade de animais vivos no grupo de tratamento, quantidade de animais mortos no grupo de tratamento, assim como, o número amostral do grupo controle e grupo de tratamento. Para a meta-análise um estudo pode contribuir com mais de um tamanho de efeito (BORESTEIN, M., *et al.*, 2009), seja por apresentar diferentes grupos de animais, diferentes doses ou diferentes tempos de exposição.

Nesta meta-análise um grupo controle e um grupo tratado para cada experimento independente foi avaliado. Para os estudos que apresentaram diferentes concentrações foi determinado que a maior concentração até a dose limite seria utilizada. Da mesma forma, para estudos que apresentaram diferentes tempo de exposição, estabeleceu-se que apenas o maior tempo de exposição seria considerado para as análises. As principais informações dos artigos estão organizadas em uma tabela (Tabela 1).

4.2 Análise de Dados

A análise dos dados foi realizada no software OpenMee (WALLACE, B. C., *et al.*, 2017). O tamanho do efeito foi calculado para cada estudo e mostrou a magnitude do efeito do tratamento (BORESTEIN, M., *et al.*, 2009). O modelo aleatório foi adotado nas análises. Os tamanhos dos efeitos variaram de -1 à +1, onde zero significa que não houve diferença significativa entre o grupo tratado e o grupo controle. Valores positivos indicam que houve mortalidade provocada pelo tratamento com a ATZ (HEDGES, L. V, 1981). O teste Cochran Q e o teste I^2 foram utilizados para estimar a heterogeneidade. Segundo Cochran de 0-30%: heterogeneidade não significativa; de 31-50% heterogeneidade moderada; de 51-80% heterogeneidade substancial; e de 81-100% heterogeneidade alta (HIGGINS, J. P. T., *et al.*, 2006). O teste I^2 de 75% ou superior é considerado alto e não atribuível ao aleatório (VAN MAELE-FABRY, G., *et al.*, 2011).

Foram realizadas análises de subgrupo para explorar a provável heterogeneidade. Foram testados subgrupos como grupo de animais, tipo de

organismo vertebrado ou invertebrado, estágio de vida, tipo de exposição e tipo de formulação. A meta-regressão foi utilizada para avaliar variáveis contínuas, como o tempo de exposição, concentração e dose. O viés de publicação foi explorado em forma de gráfico de funil, foram utilizados os valores de tamanho de efeito (observed outcome) e erro padrão. Esta é uma análise subjetiva, principalmente se há um pequeno número de amostras, por este motivo também foram realizadas análises calculando o número a prova de falhas de Rosenthal e Orwin.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Resumo dos resultados da pesquisa

Toda a busca nas bases de dados mencionadas anteriormente resultou em 965 publicações: no Web of Science foram encontrados 481 artigos, no Scopus e Pubmed 248 e 236 respectivamente. Os estudos duplicados e os que não responderam aos critérios elegíveis para a meta-análise, foram excluídos. Esse procedimento levou a exclusão de estudos que investigaram os efeitos da ATZ em combinação com outros agrotóxicos, que não avaliaram efeitos de toxicidade, não apresentaram dados sobre mortalidade ou sobrevivência, não apresentaram o número de indivíduos por grupo tratado ou controle, apresentavam dados LC 50 e/ou LD 50 dos animais investigados, bem como os artigos que utilizaram concentrações acima do limite estabelecido no presente estudo. Os artigos elegíveis foram verificados quanto a apresentação dos dados necessários para a meta-análise. O fluxograma PRISMA 2009 completo sintetizando toda a pesquisa bibliográfica é apresentado na figura 5.

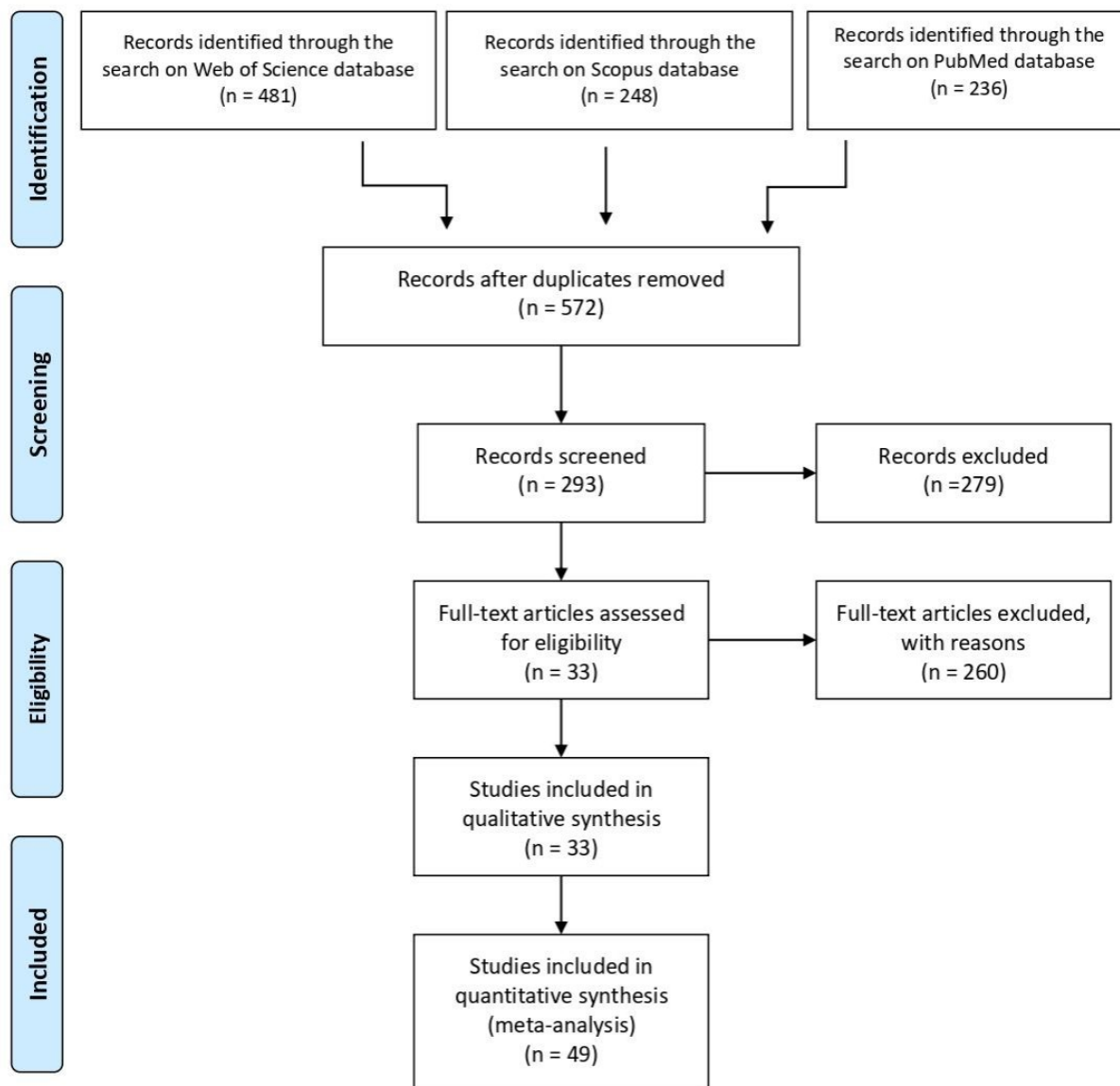
O levantamento de dados para a entrada em programa meta-analítico sempre é realizado para a par, devendo ter-se um grupo contaminado e um grupo de controle. Em artigos onde mais de um grupo controle era comparado a um grupo contaminado, foi possível obter mais de um conjunto de dados.

Desta forma, 33 artigos foram selecionados ao final do processo de refinamento e geraram 49 estimativas de efeitos da ATZ, ou seja, 49 comparações controle-tratamento, aqui denominadas conjunto de dados (Tabela 1).

Figura 5 - Fluxograma PRISMA 2009



PRISMA 2009 Flow Diagram



Fonte: MOHER, D., et. al. The PRISMA Group (2009).

Tabela 1 – Conjunto de Dados

Conjunto de dados	Citação	Grupo de Animais	Espécies	Organismo	Estágio da Vida	Rota de Exposição	Formulação	Concentração ou dose (mg/L-1)	Tempo de Exposição (Dias)
1	Brain, R. A., (2021)	peixe	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Vertebrado	embrião	imersão	puro	0,57	5
2	Rimayi, C., et al (2018)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,5	90
3	Rimayi, C., et al (2018)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	adulto	imersão	puro	0,5	90
4	Gustafson, K. D. et al (2015)	molusco	<i>Biomphalaria glabrata</i>	Invertebrado	adulto	imersão	puro	0,03	28
5	Gustafson, K. D. et al (2015)	molusco	<i>Helisoma trivolvis</i>	Invertebrado	adulto	imersão	puro	0,03	28
6	Gustafson, K. D. et al (2015)	molusco	<i>Physa acuta</i>	Invertebrado	adulto	imersão	puro	0,03	28
7	Gustafson, K. D. et al (2015)	molusco	<i>Stagnicola elodes</i>	Invertebrado	adulto	imersão	puro	0,03	28
8	Trachantong, W., et al (2013)	anfíbio	<i>Hoplobatrachus rugulosus</i>	Vertebrado	larva	imersão	comercial	0,02	40
9	Brodeur, J. C., et al. (2009)	anfíbio	<i>Rhinella arenarum</i>	Vertebrado	larva	imersão	puro	0,1	21
10	Marcus, S. R. et al. (2016)	inseto	<i>Drosophila melanogaster</i>	Invertebrado	adulto	oral	puro	0,02	50

11	Chen, X., <i>et al</i> (2015)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	larva	imersão	puro	0,1	120
12	Asouzu Johnson, J., <i>et al</i> (2019)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,5	90
13	Asouzu Johnson, J., <i>et al</i> (2019)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	adulto	imersão	puro	0,5	90
14	Hosmer, A. J., <i>et al</i> (2017)	peixe	<i>Oryzias latipes</i>	Vertebrado	adulto	imersão	puro	0,05	35
15	Langerveld, A. J., <i>et al</i> (2009)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,4	46
16	Moore, A., <i>et al</i> (2008)	peixe	<i>Salmo salar</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	comercial	0,001	3
17	Moore, A., <i>et al</i> (2008)	peixe	<i>Salmo salar</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	comercial	0,001	3
18	Brodeur, J. C., <i>et al</i> (2013)	anfíbio	<i>Rhinella arenarum</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,1	40
19	Dionne, E. <i>et al</i> (2021)	peixe	<i>Pimephales promelas</i>	Vertebrado	larva	imersão	comercial	0,46	30
20	Dionne, E., <i>et al</i> (2021)	peixe	<i>Pimephales promelas</i>	Vertebrado	larva	imersão	comercial	0,46	60
21	Dionne, E., <i>et al</i> (2021)	peixe	<i>Pimephales promelas</i>	Vertebrado	larva	imersão	comercial	0,46	274
22	Sifkarovski, J., <i>et al</i> (2014)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	comercial	0,01	50
23	Koprivnikar, J. (2010)	anfíbio	<i>Rana pipiens</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,3	90
24	Silveyra, G. R., <i>et al</i> (2017)	crustáceo	<i>Neohelice granulata</i>	Invertebrado	adulto	imersão	comercial	0,3	90
25	Kloas, W., <i>et al</i> (2009)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,1	75

26	Kloas, W., <i>et al</i> (2009)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,1	75
27	De Albuquerque, F. P., <i>et al.</i> , 2021	inseto	<i>Chironomus sancticaroli</i>	Invertebrado	larva	imersão	puro	0,47	4
28	De Albuquerque, F. P., <i>et al.</i> , 2021	inseto	<i>Chironomus sancticaroli</i>	Invertebrado	larva	imersão	puro	0,002	10
29	Brunetti, I. A., <i>et al</i> (2022)	peixe	<i>Hyphessobrycon eques</i>	Vertebrado	adulto	imersão	comercial	0,57	30
30	Chromcova, L., <i>et al</i> (2013)	peixe	<i>Cyprinus carpio</i>	Vertebrado	embrião	imersão	puro	0,3	33
31	Brodkin, M. A., <i>et al</i> (2007)	anfíbio	<i>Rana pipiens</i>	Vertebrado	adulto	imersão	puro	0,021	8
32	Brodkin, M. A., <i>et al</i> (2007)	anfíbio	<i>Rana pipiens</i>	Vertebrado	adulto	imersão	puro	0,021	8
33	Brodkin, M. A., <i>et al</i> (2007)	anfíbio	<i>Rana pipiens</i>	Vertebrado	adulto	imersão	puro	0,01	8
34	Brodkin, M. A., <i>et al</i> (2007)	anfíbio	<i>Rana pipiens</i>	Vertebrado	adulto	imersão	puro	0,01	8
35	Khalil, S. R., <i>et al</i> (2017)	peixe	<i>Cyprinus carpio</i> L	Vertebrado	adulto	imersão	puro	0,42	40
36	Blahova, J., <i>et al</i> (2020)	peixe	<i>Danio rerio</i>	Vertebrado	embrião	imersão	puro	0,3	4
37	Blahova, J., <i>et al</i> (2020)	peixe	<i>Danio rerio</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,09	28
38	Sai, L., <i>et al</i> (2015)	anfíbio	<i>Bufo bufo gargarizans</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	puro	0,1	85
39	Mac Loughlin, C., <i>et al</i> (2016)	crustáceo	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	comercial	0,5	28

40	Mac Loughlin, C., et al (2016)	crustáceo	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	comercial	0,5	28
41	Mac Loughlin, C., et al (2016)	crustáceo	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	comercial	0,5	28
42	Mac Loughlin, C., et al (2016)	crustáceo	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Vertebrado	juvenil	imersão	comercial	0,5	28
43	Lawton, J. C. et al. (2005)	molusco	<i>Mercenaria mercenaria</i>	Invertebrado	juvenil	imersão	puro	0,5	10
44	Carr, J. A., et al. (2003)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	larva	imersão	puro	0,02	80
45	Coady, K. K., et al. (2005)	anfíbio	<i>Xenopus laevis</i>	Vertebrado	larva	imersão	puro	0,02	185
46	Coady, K. K., et al. (2004)	anfíbio	<i>Rana clamitans</i>	Vertebrado	larva	imersão	puro	0,02	506
47	Windle, S., et al (2022)	anfíbio	<i>Acris blanchardi</i>	Vertebrado	larva	imersão	puro	0,05	60
48	Han, Z., et al. (2012)	crustáceo	<i>Daphnia magna</i>	Invertebrado	juvenil	imersão	puro	0,5	1
49	Opote, P.A., et al. (2020)	peixe	<i>Clarias gariepinus</i>	Vertebrado	embrião	imersão	comercial	0,01	4

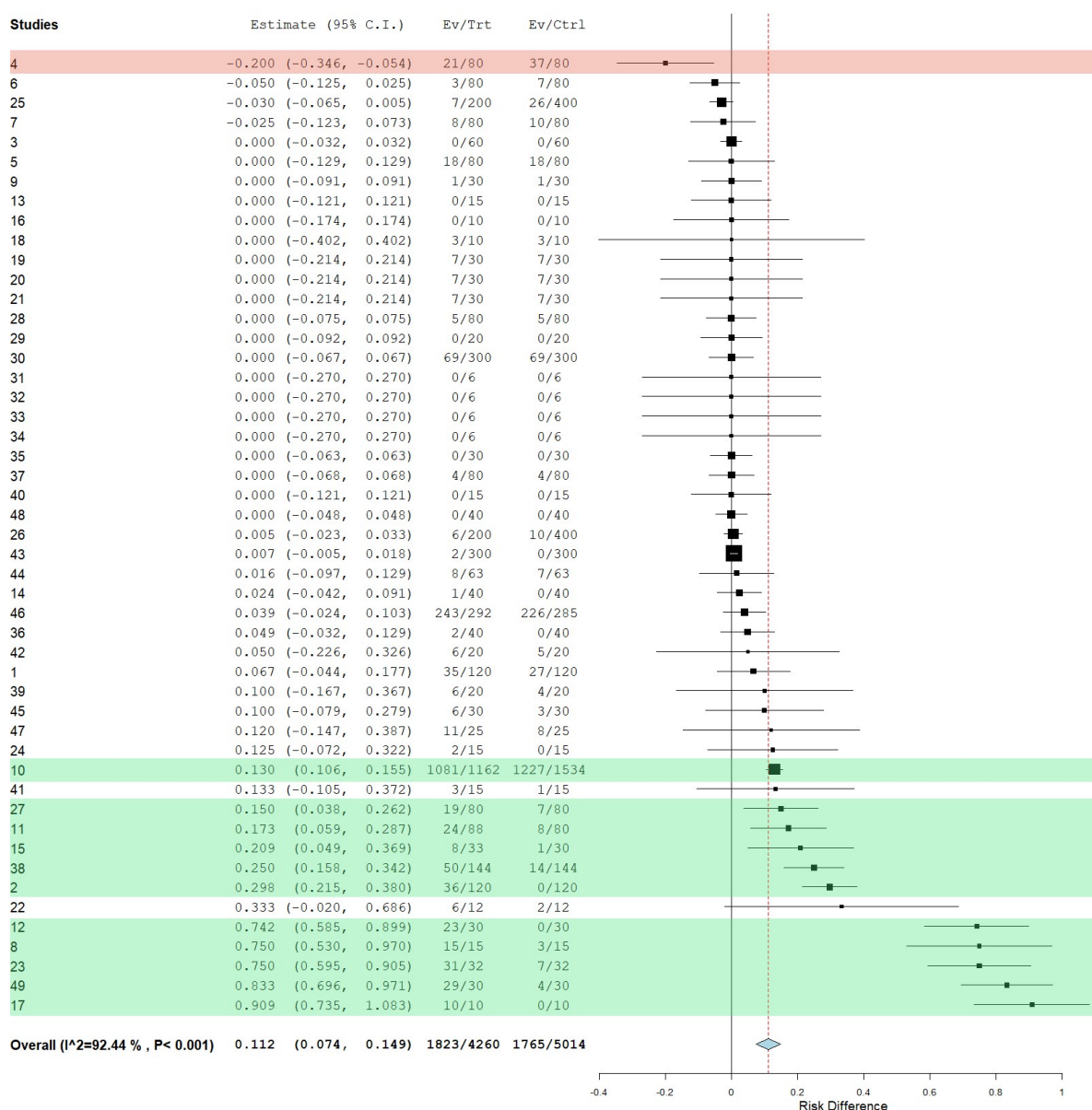
Fonte: Tabela elaborada pelo autor no software Excel 2016.

5.2. Análise do efeito letal da ATZ em animais

Onze dos 49 conjuntos de dados mostraram tamanho de efeito positivo, apresentando um aumento da mortalidade em animais que foram expostos a ATZ, principalmente de anfíbios. Somente um estudo registrou um tamanho de efeito maior no grupo controle do que no grupo tratado. Esse estudo testou formulação comercial de ATZ em concentração de $0,02 \text{ mg/L}^{-1}$ em larvas de anfíbios pertencentes a espécie *Hoplobatrachus rugulosus* (TRACHANTONG, W., *et al.*, 2013). Já os 37 estudos mostraram tendências positivas ou negativas, porém com intervalos de confiança (IC) que cruzam o zero, portanto, não registraram efeito significativo da ATZ na mortalidade dos animais investigados.

O resultado geral da análise aplicada ao efeito letal da ATZ nos animais foi um valor positivo e os IC não cruzaram zero, indicando diferença significativa entre o tratamento à base de ATZ e o controle ($E+ 0,112$; IC: $+0,074$ a $+0,149$; $p= < 0,001$). Assim, a exposição a esse herbicida foi associada ao aumento da taxa de mortalidade em animais (Figura 6). Um tamanho de efeito de $0,112$ indica uma diferença de risco $11,2\%$ maior para mortalidade em animais expostos. A hipótese inicial era que a exposição a ATZ poderia aumentar a mortalidade de animais, o que foi corroborado por meio do resultado observado. Conforme Mercúrio, P *et al.* (2018) vários estudos revelaram a toxicidade potencialmente alta de substâncias de degradação da ATZ em diversos organismos não alvo.

Figura 6. Forest plot de tamanhos de efeito observados nos principais estudos de análise focados na avaliação do efeito letal da ATZ em animais.



Conjuntos de dados: de acordo com a Tabela 1, (verde: tamanho do efeito positivo, vermelho: tamanho do efeito negativo, branco: sem efeito); → Estimativa (IC 95%): representa o tamanho do efeito e intervalo de confiança de 95%; Ev/Trt e Ev/Ctrl: número de eventos por tratamento ou por controle; Geral: p representa o valor p do teste z, que testa a hipótese nula de que a intervenção não tem efeito. Significância $p \leq 0,05$. Linha tracejada: geral.

Fonte: WALLACE, B.C., et al. OpenMEE, 2017.

Os testes de heterogeneidade mostraram heterogeneidade significativa: Q ($df= 48$) = 634,52 e $p < 0,001$; I^2 de 92,43%, onde Q =heterogeneidade, df =graus de liberdade, p = probabilidade e I^2 é a porcentagem de heterogeneidade. Uma porcentagem de heterogeneidade maior que 81% é considerada alta. A alta heterogeneidade pode ser explicada pelos diferentes tipos de animais avaliados, pelo estágio de vida do animal exposto a ATZ, tempo de exposição, concentração da ATZ, entre outros fatores. Assim, uma análise por categorias foi realizada para melhor compreender a alta heterogeneidade.

5.3. Categorizando os resultados

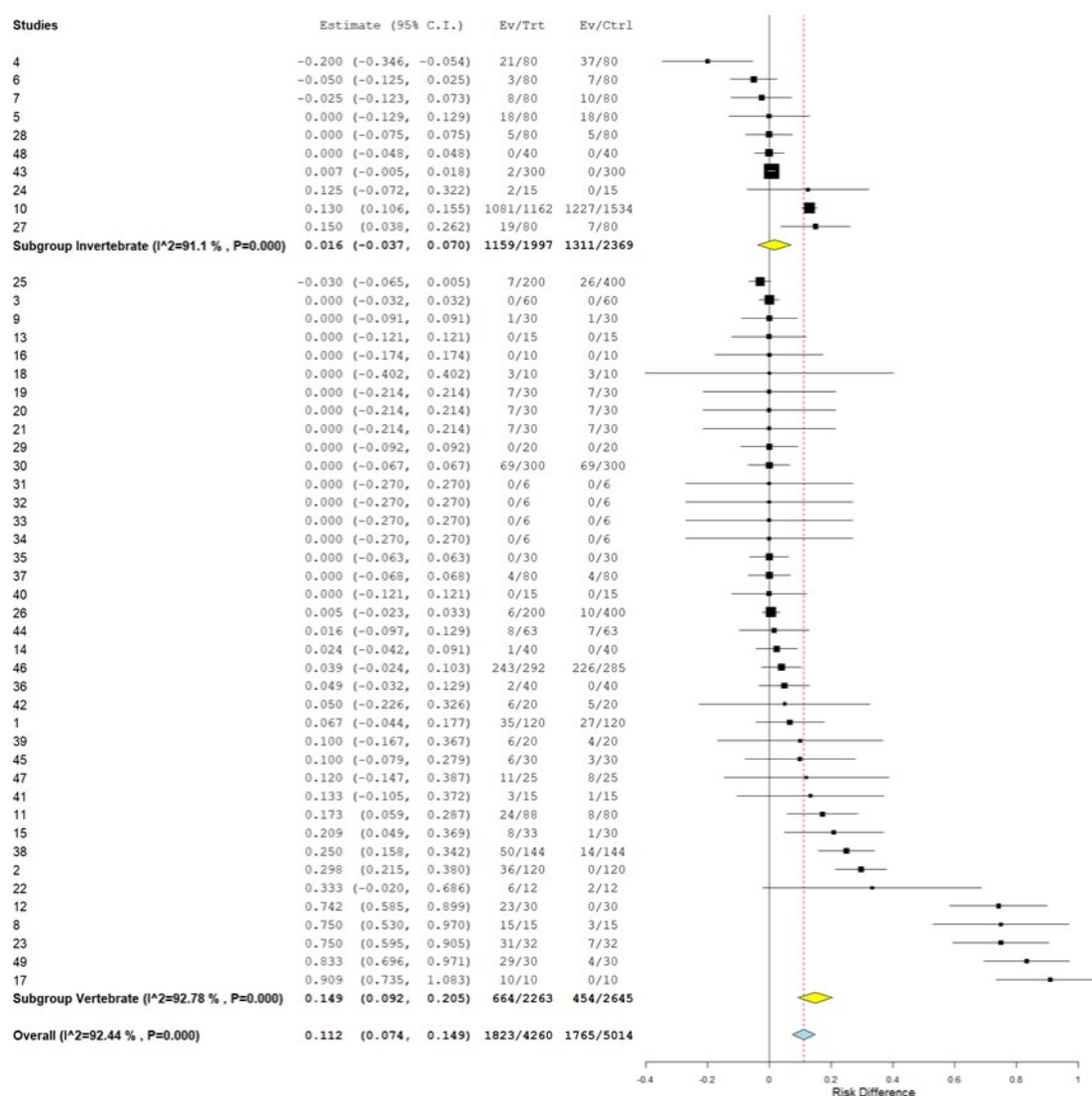
5.3.1. Organismos

Os organismos foram divididos em duas categorias diferentes: vertebrados e invertebrados. Trinta e nove dos 49 conjuntos de dados avaliaram vertebrados, enquanto 10 avaliaram invertebrados. Conforme a figura 7, a categoria “vertebrados” apresentou efeito resumo positivo e significativo ($E+ 0,149$; IC: $+0,092$ a $+0,205$; $p < 0,001$), ou seja, organismos vertebrados expostos a ATZ registraram maiores taxas de mortalidade do que os indivíduos do grupo controle.

Muitos estudos mostram que a ATZ possui efeitos prejudiciais em muitos grupos de vertebrados, no entanto poucos trabalhos que avaliaram os efeitos prejudiciais dos agrotóxicos em invertebrados avaliaram a ATZ (MARCUS, S. R., FIUMERA, A. C., 2016). Os efeitos da ATZ na fisiologia de vertebrados foram abordados em muitos trabalhos, principalmente por causa do papel da fisiologia para a sobrevivência e conservação dos vertebrados (ROHR, J. R., 2021). Embora a ATZ não provoque diretamente a morte de vertebrados, é provável que ela aumente a mortalidade por causa dos efeitos indiretos, como por exemplo o aumento de doenças infecciosas (ROHR, J. R., 2021).

Os animais vertebrados apresentaram uma diferença de risco 14,9% maior para mortalidade do que os animais invertebrados expostos a ATZ. Entretanto, a categoria “invertebrados” não apresentou resultado significativo, pois enquadrou o nulo e apresentou intervalo de confiança mais amplo ($E+0,016$; IC: $-0,037$ a $+0,070$; $p = 0,555$) Assim, não houve diferença significativa no efeito letal da ATZ em organismos invertebrados entre o grupo controle e os grupos tratados.

Figura 7. Categorização dos resultados sobre o efeito letal da ATZ por organismo.



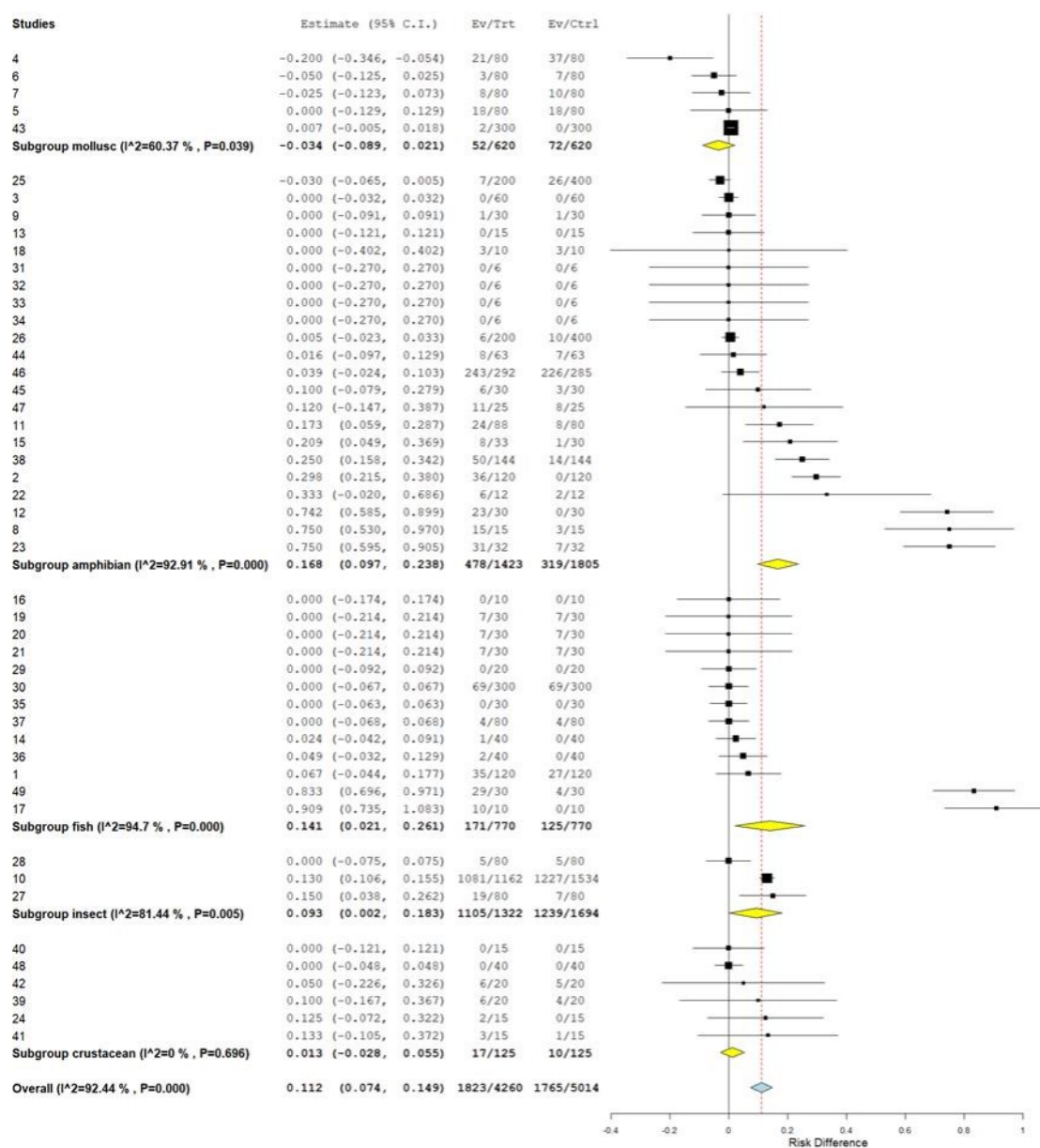
Subgrupo: identifica as categorias do conjunto de dados e → indica o Efeito Resumo (E+: Geral);
Estimativa (95% CI): representa o tamanho do efeito e o intervalo de confiança de 95%; **P:** valor de p da heterogeneidade do grupo e global, diferença significativa $p \leq 0,05$; **N:** número da amostra; **Linha tracejada:** geral.

Fonte: WALLACE, B.C., et al. OpenMEE, 2017.

O grupo de vertebrados e invertebrados apresentaram alta heterogeneidade, com I^2 de 92,78% e I^2 de 91,1%, respectivamente. Essa heterogeneidade pode estar presente devido aos diferentes táxons animais que foram avaliados nos estudos. Desta forma, os organismos foram categorizados de acordo com o grupo animal. Os estudos aqui selecionados avaliaram os efeitos letais da ATZ em anfíbios (22), peixes

(13), crustáceos (6), moluscos (5) e insetos (3); os resultados registrados para cada subgrupo são mostrados na figura 8. Somente o grupo de moluscos não apresentou maior mortalidade nos animais expostos a ATZ (E+ -0.034; CI: -0.089 a 0.021; p=0.229). As categorias “anfíbios” e “peixe” apresentaram a maior taxa de mortalidade quando expostos a ATZ, ou seja, eles eram mais suscetíveis ao efeito letal do herbicida, registraram E+ 0,168 (IC: +0,097 a +0,238; p = 0,001) e E+ 0,141 (IC: +0,021 a +0,261; p = 0,021), respectivamente. Os efeitos causados pela ATZ em organismos de água doce, principalmente peixes e anfíbios, são bem documentados. Para vertebrados de água doce, a água da superfície é certamente a principal forma de exposição a ATZ (ROHR J.R, MCCOY K.A., 2010). Além disso, como os anfíbios possuem ciclos de vida que abrangem fases aquáticas e terrestres, eles estão expostos aos agrotóxicos em dois ambientes (FRYDAY, S., THOMPSON, H., 2012). Em anfíbios, os efeitos persistentes da ATZ no comportamento e fisiologia podem aumentar o risco de mortalidade (ROHR, J. R., 2021). Em peixes e anfíbios, os efeitos indiretos e subletais da ATZ pode provocar a morte dos animais (ROHR J.R, MCCOY K.A., 2010). Muitos trabalhos relatam que a exposição a ATZ em peixes e anfíbios não aumenta a mortalidade, mas deve-se considerar a concentração e o tempo de exposição, pois são variáveis que afetam diretamente o resultado do estudo (HANSON, M. L., *et al.*, 2019). Por exemplo, em sapos *Physalaemus cuvieri* a mortalidade só foi observada em concentrações acima de 240 µg/L (WRUBLESWSKI, J., *et al.*, 2018).

Figura 8. Categorização dos resultados sobre o efeito letal da ATZ por grupo de animais.



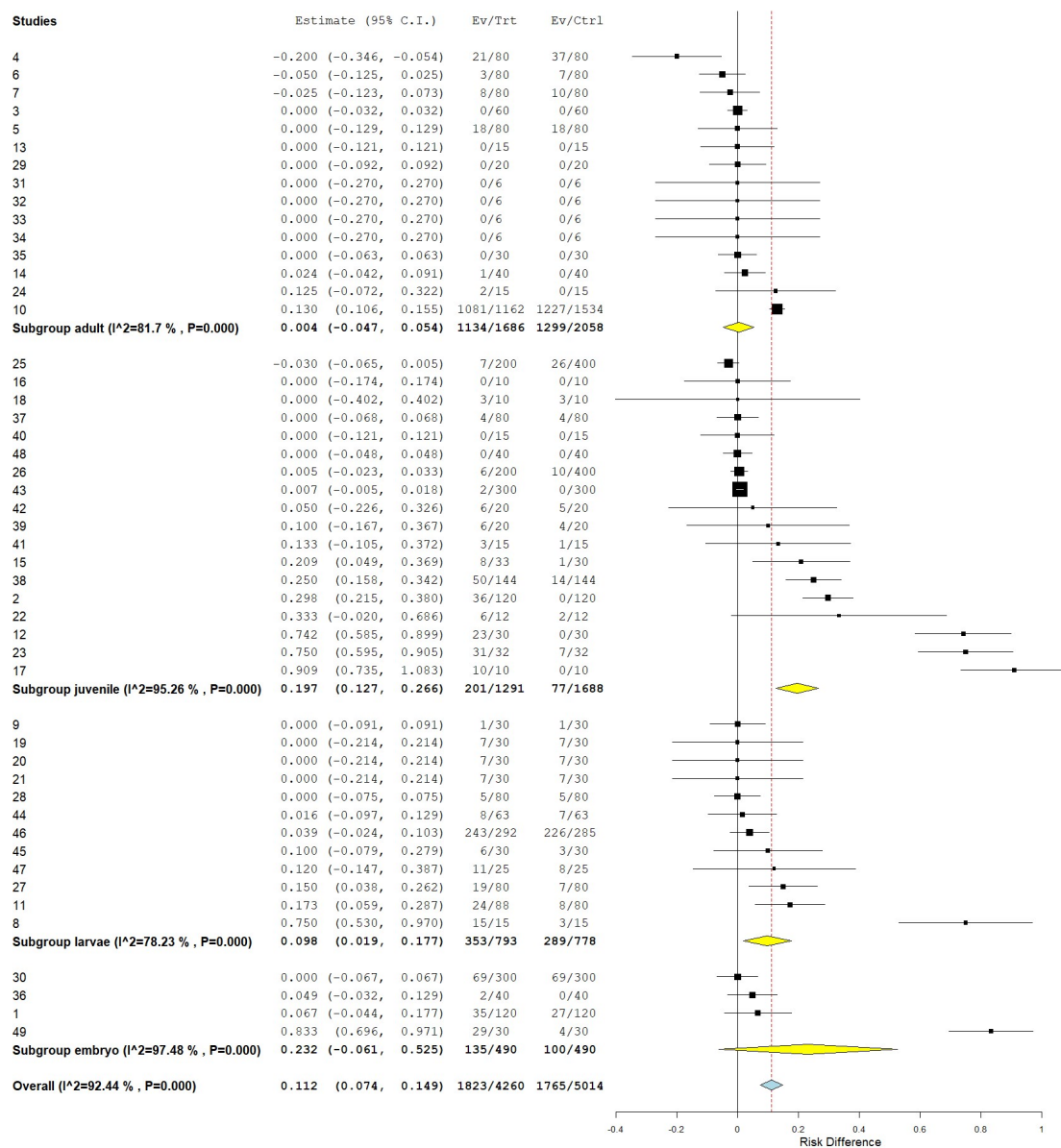
Categorias: identifica as categorias do conjunto de dados e → indica o Efeito Resumo (E+ Geral); Estimativa (95% CI): representa o tamanho do efeito e o intervalo de confiança de 95%; P: valor de p, diferença significativa $p \leq 0,05$; N: número da amostra; Linha tracejada: geral.

Fonte: WALLACE, B.C., et al. OpenMEE, 2017.

5.3.2 Fase de vida

Para esta categorização, 18 estudos avaliaram a letalidade da ATZ em organismos juvenis; 15, em organismos adultos; 12 em larvas e 4, em embriões. Com base na figura 9, a exposição dos organismos a ATZ nas fases juvenil e larva resultou em efeito letal significativo. O efeito sumário em indivíduos juvenil e larva mostrou resultado positivo e significativo; não cruzou o nulo ($E+ 0,197$; IC: $+0,127$ a $+0,266$; $p= <0.001$ e $E+ 0,098$; IC: $+0,019$ a $+0,177$; $p= 0,015$, respectivamente). Os estágios juvenil e larva apresentaram diferenças de risco 19,7% e 12,7% maiores para mortalidade após exposição a ATZ. Adultos e embriões expostos a diferentes concentrações de ATZ não apresentaram diferença significativa em relação ao controle ($E+ 0,004$; IC: $-0,047$ a $+0,054$; $p= 0,889$ e $E+ 0,232$; IC: $-0,061$ a $+0,525$; $p= 0,121$). Os estágios juvenis e larvais sofrem mais os efeitos da ATZ, provavelmente porque nestes estágios existe uma imaturidade da pele e do sistema imunológico, além de uma alta taxa metabólica, fatores que os deixam mais sensíveis as substâncias testadas, diferente do grupo adulto que pode apresentar uma melhor condição de desenvolvimento (AZEVEDO-LINHARES, M., *et al.*, 2018). Em relação ao grupo embriões, não há tantas pesquisas realizadas até o momento, o que deixa claro a necessidade de mais estudos nesse grupo.

Figura 9. Categorização dos resultados sobre o efeito letal da ATZ em animais, com base em sua fase de vida.



Categorias: identifica as categorias do conjunto de dados e → indica o Efeito Resumo (E+ Geral); **Estimativa (95% CI):** representa o tamanho do efeito e o intervalo de confiança de 95%; **P:** valor de p, diferença significativa $p \leq 0,05$; **N:** número da amostra; **Linha tracejada:** geral.

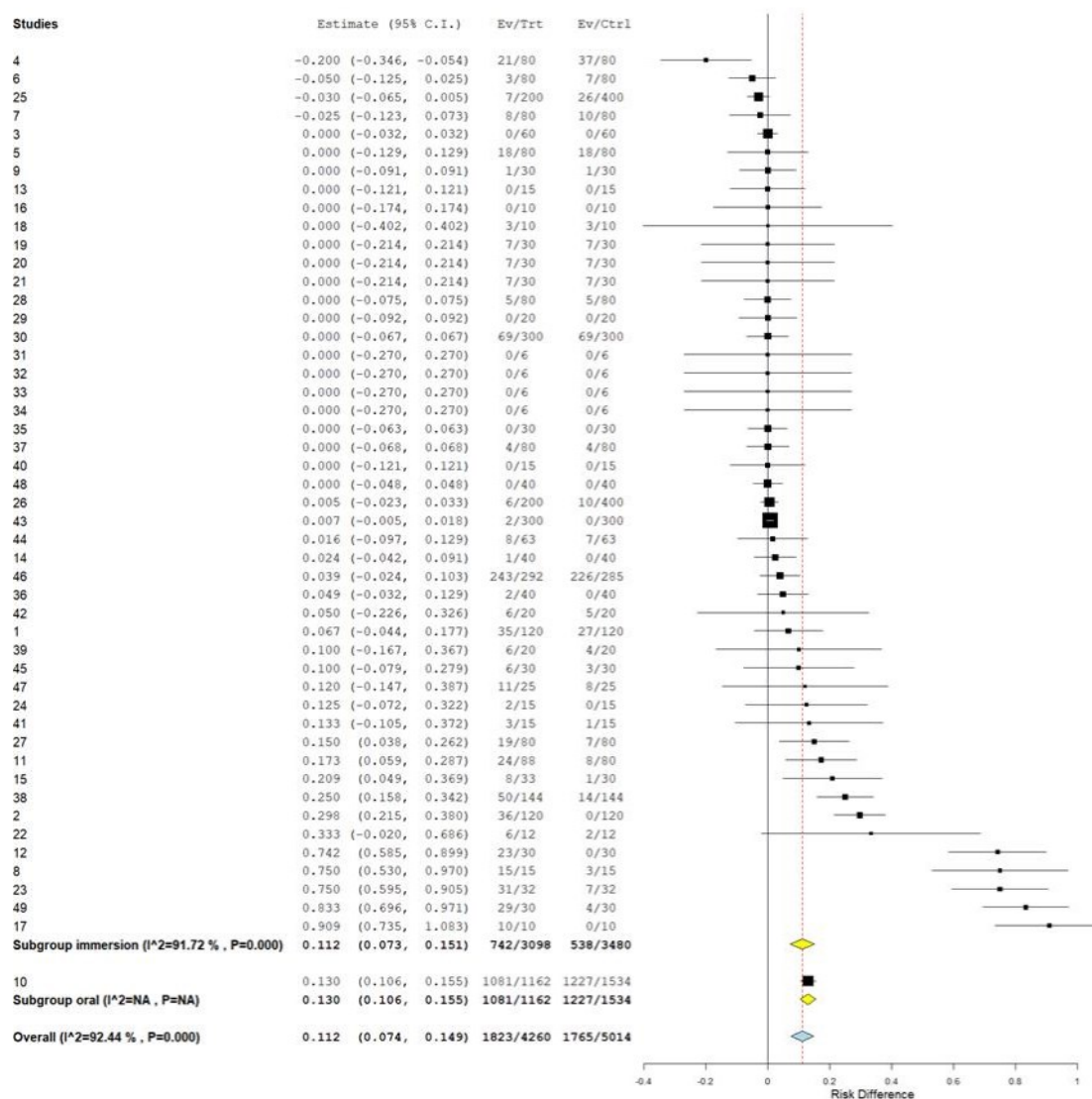
Fonte: WALLACE, B.C., et al. OpenMEE, 2017.

5.3.3 Rota de exposição

Em relação a rota de exposição ao herbicida ATZ, 48 conjuntos de dados avaliaram a exposição por imersão, enquanto apenas 1 estudo avaliou a exposição oral, portanto, não pode ser considerada um subgrupo com resultado confiável. O subgrupo imersão apresentou resultados positivos e significativos e não ultrapassou o nulo ($E+ 0,112$ IC: $+0,073$ a $+0,151$; $p= <0,001$) (figura 10). Um tamanho de efeito de 0,112 indica uma diferença de risco 11,2% maior para mortalidade em animais expostos por imersão a ATZ. Dessa forma, a via de exposição pode influenciar diretamente nos efeitos tóxicos nos animais expostos por imersão, todavia, necessita-se de mais estudos em outras rotas, para afirmações mais concretas.

Em um estudo onde organismos foram expostos por imersão ao agrotóxico 2,4-D, também foram os mais afetados em relação a outras formas de exposição (DA SILVA, A. P., *et al.*, 2022). Similarmente, a exposição por via oral ou por inalação também podem ter graves impactos (WHITFORD, F., *et al* ,2003). Em geral, organismos que apresentam pelo menos uma fase da vida em ambientes aquáticos é mais suscetível a toxicidade dos agrotóxicos. Esse resultado explica de certa forma porque os peixes e anfíbios são mais afetados pela exposição a ATZ.

Figura 10. Categorização dos resultados sobre o efeito letal da ATZ em animais, com base na via de exposição.



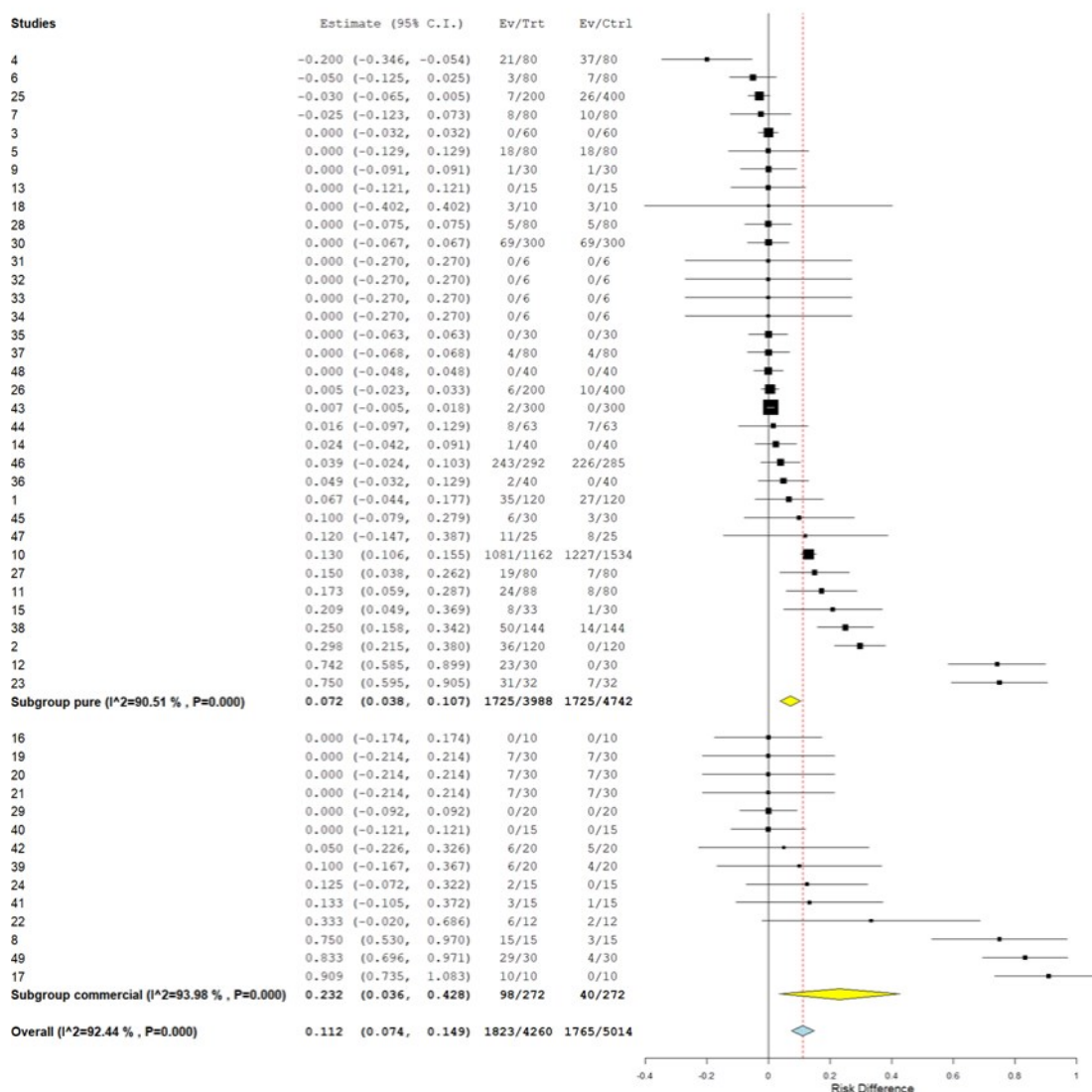
Categorias: identifica as categorias do conjunto de dados e → indica o Efeito Resumo (E+ Geral); **Estimativa (95% CI):** representa o tamanho do efeito e o intervalo de confiança de 95%; **P:** valor de p, diferença significativa $p \leq 0,05$; **N:** número da amostra; **Linha tracejada:** geral.

Fonte: WALLACE, B.C., et al. OpenMEE, 2017.

5.3.4 Formulação

A formulação comercial foi usada em 14 conjuntos de dados, enquanto o princípio ativo de padrão analítico puro foi usado em 35 conjuntos de dados. Ambas situações apresentaram resultado positivo e o IC observado para o efeito sumário não ultrapassou o zero. O efeito sumário foi maior para a formulação comercial ($E+ 0,232$; IC: $+0,036$ a $+0,428$; $p= 0,020$), o que indica uma diferença de risco 23,2% maior para mortalidade dos animais expostos às formulações comerciais do herbicida (figura 11).

Figura 11. Categorização dos resultados sobre o efeito letal da ATZ em animais, com base na formulação adotada.



Categorias: identifica as categorias do conjunto de dados e → indica o Efeito Resumo (E+ Geral); **Estimativa (95% CI):** representa o tamanho do efeito e o intervalo de confiança de 95%; **P:** valor de p, diferença significativa $p \leq 0,05$; **N:** número da amostra; **Linha tracejada:** geral.

Fonte: WALLACE, B.C., et al. OpenMEE, 2017.

A tabela 2 apresenta um resumo de todos os resultados deste estudo. De acordo com os resultados, a exposição a ATZ aumenta a letalidade em animais, principalmente vertebrados, como anfíbios e peixes, tanto na forma larval quanto na forma juvenil. Animais expostos por imersão a formulações comerciais de ATZ, na forma de amina, apresentam alta mortalidade.

Tabela 2 – Resumo dos resultados da meta-análise sobre o efeito letal da ATZ em animais.

Categorias	Subgrupo	Resultados	Interpretação
Resumo do Efeito Geral		E+ 0.112; IC: -0.074 a 0.149; p<0.001	**
Grupo de animais	Molusco	E+ -0.034; IC: -0.089 a 0.021; p=0.229	ns
	Anfíbio	E+ 0.168; IC: 0.097 a 0.238; p=0.001	**
	Peixe	E+ 0.141; IC: 0.021 a 0.261; p=0.021	**
	Inseto	E+ 0.093; IC: 0.002 a 0.183; p=0.045	**
	Crustáceo	E+ 0.013; IC: -0.028 a 0.055; p=0.536	ns
Organismos	Vertebrado	E+ 0.149; IC: 0.092 a 0.205; p= < 0.001	**
	Invertebrado	E+ 0.016; IC: - 0.037 a 0.070; p=0.555	ns
Rota de Exposição	Imersão	E+ 0.112; IC: 0.073 a 0.151; p= < 0.001	**
	Oral	E+ 0.130; IC: 0.106 a 0.155; p=NA	**
Formulação	Puro	E+ 0.072; IC: 0.038 a 0.107; p= < 0.001	**
	Comercial	E+ 0.232; IC: 0.036 a 0.428; p=0.020	**
Estágio de Vida	Adulto	E+ 0.004; IC: -0.047 a 0.054; p=0.889	ns
	Juvenil	E+ 0.197; IC: 0.127 a 0.266; p= < 0.001	**
	Larva	E+ 0.098; IC: 0.019 a 0.177; p=0.015	**
	Embrião	E+ 0.232; IC: -0.061 a 0.525; p=0.121	ns

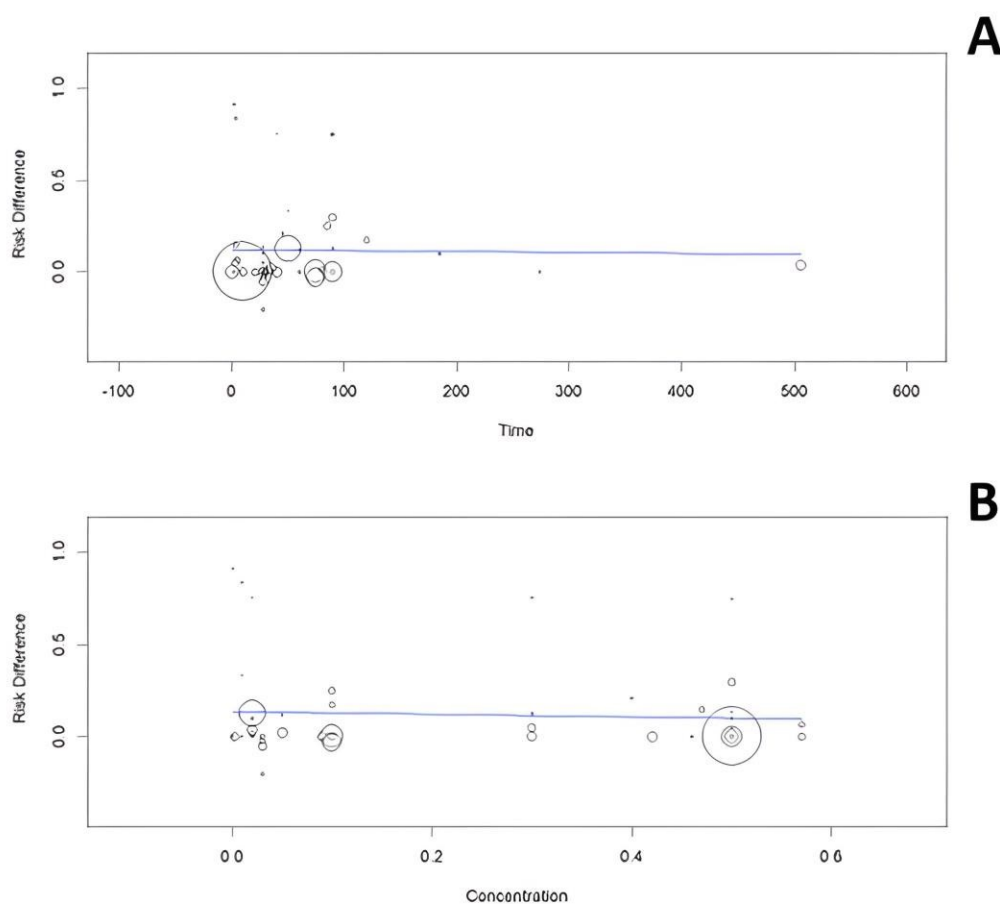
E+: tamanho do efeito; IC: intervalo de confiança; p: p-valor, diferença significativa $p \leq 0,05$. ** resultado significativo; ns: Resultado não significativo. NA = não analisado devido ao pequeno número de estudos.

Fonte: Tabela elaborada pelo autor no software Excel 2016.

5.3.5. Relação entre o tamanho dos efeitos e o tempo/concentração/dose de exposição

A análise de regressão mostrou que não houve relação entre o tamanho dos efeitos e tempo de exposição (Figura 12A). A inclinação foi negativa (-0,000), mas não significativa ($p = 0,907$), o que implica que a variável independente não explica a variação nos tamanhos de efeito. A meta-regressão para a concentração também foi negativa (-0,068), mas não significativa ($p=0,681$) (Figura 12B). A heterogeneidade do erro residual para o tempo foi significativa ($p < 0,001$), significando a existência de heterogeneidade entre os efeitos de tamanho que ainda não foi explicada pelo modelo. Da mesma forma, a heterogeneidade do erro residual, para a concentração, foi significativa ($p < 0,001$), ou seja, ainda há heterogeneidade.

Figura 12. Gráficos de regressão



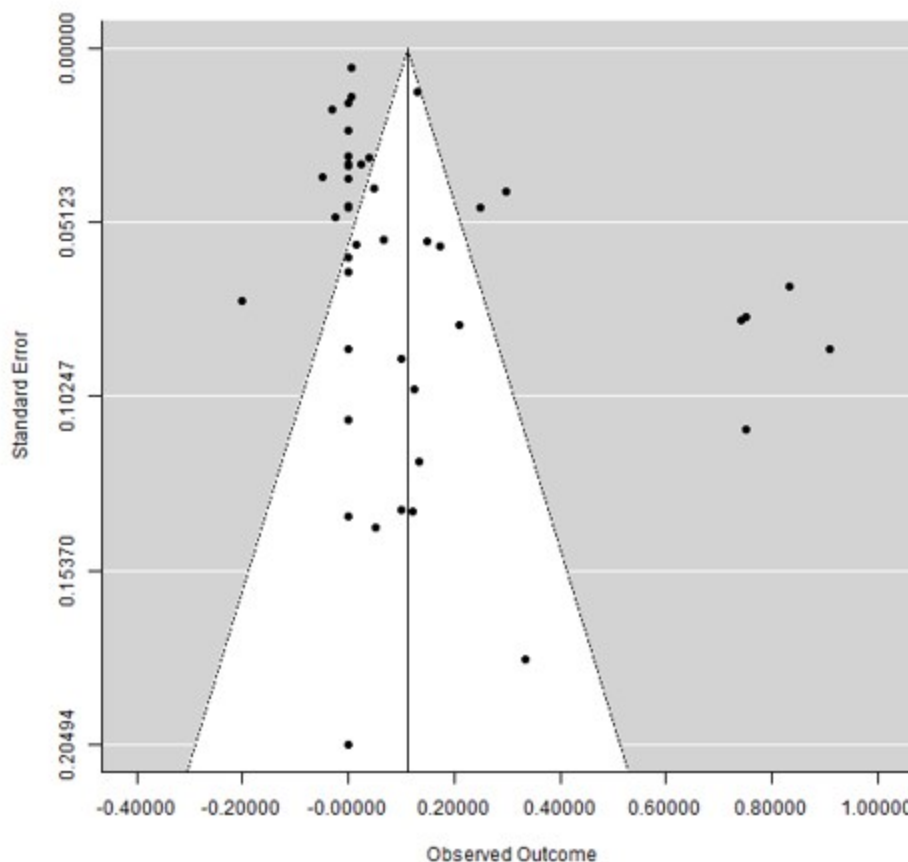
A figura mostra a relação entre o tamanho dos efeitos (diferença de risco). Tempo de exposição (A); Concentração de ATZ (B).

Fonte: WALLACE, B.C., et al. OpenMEE, 2017.

5.4. Viés de publicação

Para avaliar o viés de publicação foi construído o funnel plot. De acordo com a figura 13 houve viés de publicação evidenciado pela distribuição assimétrica de estudos ao longo do funil. O viés de publicação é a tendência de se publicar trabalhos com resultados significativos (BORESTEIN, M., *et al.*, 2009). Para complementar as informações obtidas pelo funnel plot são recomendadas análises numéricas. O método de Rosenthal apresentou o Fail-safe de 2656, enquanto o Orwin apresentou Fail-safe de 49. De acordo com o método de Rosenthal seriam necessários 2656 estudos para mudar o resultado desta meta-análise, e de acordo com Orwin seriam necessários 49 estudos. Como foram encontrados 49 estudos sobre os efeitos da ATZ na mortalidade de animais, é quase impossível que existam 49 estudos que não foram encontrados.

Figura 13. Funnel plot



A figura é baseada nos 49 conjuntos de dados sobre a mortalidade de animais expostos a ATZ.

Fonte: WALLACE, B.C., et al. OpenMEE, 2017.

6 CONCLUSÃO

Concluimos de acordo com a literatura, que a exposição à ATZ aumentou a mortalidade em alguns animais, principalmente em vertebrados como anfíbios e peixes. As fases da vida mais afetadas pelo herbicida foram as fases larval e juvenil. A exposição desses animais ao herbicida tanto por imersão quanto oral desencadeou efeito tóxico capaz de aumentar os índices de letalidade, uma vez que a ATZ é bastante solúvel e os anfíbios (principal representante desta meta-análise) foram os animais mais afetados.

As concentrações de ATZ utilizadas nos estudos selecionados são ambientalmente relevantes, já tendo sido detectadas na água e no solo. Além disso, as formulações comerciais e puras foram ambas letais para os animais e esses compostos químicos são aplicados no meio ambiente. Esses achados são preocupantes, pois essas concentrações afetaram organismos não-alvo, diminuindo sua taxa de sobrevivência, o que pode levar a desequilíbrios futuros nessas populações.

Embora, os efeitos bioquímicos, fisiológicos, comportamentais, morfológicos e reprodutivos causados pela ATZ não foram abordados nesta meta-análise, o fato desse tipo de toxicidade ter sido associado a um herbicida destaca a necessidade de estudos futuros contemplando avaliações mais aprofundadas de seus níveis em diversas matrizes ambientais.

REFERÊNCIAS

AMÉZQUITA-MARROQUÍN, C. P; *et al.* Sustainable production of nanoporous carbons: Kinetics and equilibrium studies in the removal of atrazine. **J Colloid Interface Sci**; v.7, p. 252-267, 2020.

ASOUZU JOHNSON, J., *et al.* Cardiotoxicity in African clawed frog (*Xenopus laevis*) sub-chronically exposed to environmentally relevant atrazine concentrations: Implications for species survival. **Aquat Toxicol.**, 2019.

AVANCINI R. M., *et al.* Organochlorine compounds in bovine milk from the state of Mato Grosso do Sul-Brazil. **Chemosphere.**, 2013.

AZEVEDO-LINHARES, M., *et al.* Microcystin and pyriproxyfen are toxic to early stages of development in *Rhamdia quelen*: an experimental and modelling study. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 166, 311–319, 2018.

BIORENDER. Disponível em: < biorender.com >. Acesso em: janeiro de 2023.

BLAHOVÁ, J., *et al.* Oxidative stress responses in zebrafish *Danio rerio* after subchronic exposure to atrazine. **Food Chem Toxicol.**, 2013.

BLAHOVÁ, J., *et al.* Embryotoxicity of atrazine and its degradation products to early life stages of zebrafish (*Danio rerio*). **Environ Toxicol Pharmacol.**, 2020.

BORENSTEIN, M., *et al.* **Introduction to Meta-Analysis**. John Wiley, Chichester, 2009.

BRAIN, R. A.; ANDERSON, J. C.; HANSON, M. L. Acute and early life-stage toxicity of atrazine in sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 218, p. 112303, 2021.

BRODEUR, J. C., *et al.* Comparative susceptibility to atrazine of three developmental stages of *Rhinella arenarum* and influence on metamorphosis: non-monotonous acceleration of the time to climax and delayed tail resorption. **Aquat Toxicol.** 31; 91 (2): 161- 70, 2009.

BRODEUR, J. C., *et al.* Environmentally-relevant concentrations of atrazine induce non-monotonic acceleration of developmental rate and increased size at metamorphosis in *Rhinella arenarum* tadpoles. **Ecotoxicol Environ Saf.**, v. 92, 2013.

BRODKIN, M. A., *et al.* Atrazine is an immune disruptor in adult northern leopard frogs (*Rana pipiens*). **Environ Toxicol Chem.**, 2007.

BRUNA J. **Defensivos agrícolas: importância e principais tipos**. Disponível em: < <https://blog.aegro.com.br/defensivos-agricolas/> >. 2017. Acesso em 17 de janeiro de 2023.

BRUNETTI, I. A., *et al.* Histological Biomarkers and Protein Expression in *Hyphessobrycon eques* Fish Exposed to Atrazine. **Water Air Soil Pollut.** 233, 97, 2022.

CALAPRICE, A. *The Ultimate Quotable Einstein*. Princeton University Press, 2010. Nota: Trecho de uma declaração dada por Albert Einstein. para a publicação "The Dink", da Universidade de Princeton, em dezembro de 1933.

CARR, J. A., *et al.* Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology. **Environ Toxicol Chem.**, 2003.

CHEN, X., *et al.* Proteomics analysis of *Xenopus laevis* gonad tissue following chronic exposure to atrazine. **Environ Toxicol Chem.** 34 (8): 1770- 7, 2015.

CHISTE, B.M., *et al.* Risk assessment and acute toxicological effects of atrazine on Nile tilapia larvae after stress. **J Environ Sci Health B.**, 2021.

CHROMCOVA, L., *et al.* The effects of atrazine exposure on early life stages of common carp (*Cyprinus carpio*). **Neuro Endocrinol Lett.**, 2013.

COADY, K. K., *et al.* Effects of atrazine on metamorphosis, growth, and gonadal development in the green frog (*Rana clamitans*). **J Toxicol Environ Health A.**, 2004.

COADY, K. K., *et al.* Effects of atrazine on metamorphosis, growth, laryngeal and gonadal development, aromatase activity, and sex steroid concentrations in *Xenopus laevis*. **Ecotoxicol Environ Saf.**, 2005.

DA SILVA, A. P., *et al.* Does exposure to environmental 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid concentrations increase mortality rate in animals? A meta-analytic review. **Environmental Pollution**, p. 119179, 2022.

DE ALBUQUERQUE, F. P., *et al.* Use of nontarget organism *Chironomus sancticaroli* to study the toxic effects of nanoatrazine. **Ecotoxicology**. 30 (4): 733- 750, 2021.

DIONNE, E., *et al.* Chronic toxicity of technical atrazine to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) during a full life-cycle exposure and an evaluation of the consistency of responses. **Science of the Total Environment**, v. 755, p. 142589, 2021.

FRYDAY, S., THOMPSON, H. Toxicity of pesticides to aquatic and terrestrial life stages of amphibians and occurrence, habitat use and exposure of amphibian species in agricultural environments. **EFSA Supporting Publications**, v. 9, n. 9, p. 343E, 2012.

GARCÍA-ESPIÑEIRA M, TEJEDA-BENITEZ L, OLIVERO-VERBEL J. Toxicity of atrazine- and glyphosate-based formulations on *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicol Environ Saf.**, 2018.

GILL, J.P.S., *et al.* Pesticide Residues in Peri-Urban Bovine Milk from India and Risk Assessment: A Multicenter Study. **Sci Rep.**, 10, 8054, 2020.

GUSTAFSON, K. D, BELDEN, J. B, BOLEK, M. G. The effects of the herbicide atrazine on freshwater snails. **Ecotoxicology**. 24(5):1183-97, 2015.

HAN, Z., *et al.* Enhanced toxicity of atrazine to *Daphnia magna* in the presence of nano-CeO₂. **Chin. J. Geochem.** 31, 297–302, 2012.

HANSON, M. L., *et al.* Effects of atrazine on fish, amphibians, and reptiles: update of the analysis based on quantitative weight of evidence. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 49, n. 8, p. 670-709, 2019.

HE H., *et al.* A Review on Recent Treatment Technology for Herbicide Atrazine in Contaminated Environment. **Int J Environ Res Public Health**, 2019.

HEAP I. Global perspective of herbicide-resistant weeds. **Pest Manag Sci.**, v. 70 (9), p.1306-15, 2014.

HEDGES, L. V. Distribution theory for glass's estimator of effect size and related estimators. **J. Educ. Stat.** 6, 107–128, 1981.

HIGGINS, J.P.T., *et al.* Measuring inconsistency in knowledgebases. **J. Intell. Inf. Syst.** 27, 159–184, 2006.

HONG J., *et al.* Degradation of Residual Herbicide Atrazine in Agri-Food and Washing Water. **Foods**, 2022.

HORZMANN K.A., *et al.* Embryonic atrazine exposure elicits proteomic, behavioral, and brain abnormalities with developmental time specific gene expression signatures. **J Proteomics.**, 2018.

HOSMER, A. J., *et al.* Fish short-term reproduction assay with atrazine and the Japanese medaka (*Oryzias latipes*). **Environ Toxicol Chem.** 36 (9): 2327-2334, 2017.

JALLOW, M. F. A., *et al.* Pesticide risk behaviors and factors influencing pesticide use among farmers in Kuwait. **Sci Total Environ.**, p. 490-498, 2017.

KHALIL, S. R, REDA, R. M, AWAD, A. Efficacy of Spirulina platensis diet supplements on disease resistance and immune-related gene expression in *Cyprinus carpio L.* exposed to herbicide atrazine. **Fish Shellfish Immunol.**, 2017.

KLOAS W., *et al.* Does atrazine influence larval development and sexual differentiation in *Xenopus laevis*? **Toxicol Sci.**, 2009.

KOMSKY-ELBAZ, A., *et al.* Atrazine-induced toxicity in goat spermatozoa is alleviated to some extent by polyphenol-enriched feed. **Chemosphere**, 2019.

KOPRIVNIKAR, J. Interactions of environmental stressors impact survival and development of parasitized larval amphibians. **Ecol Appl.**, 2010.

LANGERVELD, A. J., *et al.* Chronic exposure to high levels of atrazine alters expression of genes that regulate immune and growth-related functions in developing *Xenopus laevis* tadpoles. **Environ Res.**, 2009.

LAWTON J. C., *et al.* Toxicity of atrazine to the juvenile hard clam, *Mercenaria mercenaria*. **Ecotoxicol Environ Saf.**, 2006.

LI X., *et al.* Toxicity comparison of atrazine on *Eisenia fetida* in artificial soil and three natural soils. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.**, 2023.

MAC LOUGHLIN, C., *et al.* Effects of atrazine on growth and sex differentiation, in juveniles of the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus*. **Ecotoxicol Environ Saf.**, 2016.

MALAKOOTIAN, M., *et al.* Advanced oxidation processes for the removal of organophosphorus pesticides in aqueous matrices: A systematic review and meta-analysis. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 134, p. 292-307, 2020.

MARCUS, S. R., FIUMERA, A. C. Atrazine exposure affects longevity, development time and body size in *Drosophila melanogaster*. **Journal of insect physiology**, v. 91, p. 18-25, 2016.

MARICAN, A., DURÁN-LARA, E. F. A review on pesticide removal through different processes. **Environ Sci Pollut Res**, v. 25, p. 2051–2064, 2018.

MARTINS, C. X., *et al.* Análise de ATZ em amostras de água e solo por cromatografia gasosa (GC-ECD). **Bioenergia em revista: diálogos**, ano 3, n. 1, p. 128-138, jan./jun. 2014.

MERCURIO, P., *et al.* Contribution of transformation products towards the total herbicide toxicity to tropical marine organisms. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 4808, 2018.

MOHER, D., *et al.* The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta- Analyses: **The PRISMA Statement**. 2009.

MOORE, A. *et al.* The impact of a pesticide on the physiology and behaviour of hatchery-reared Atlantic salmon, *Salmo salar*, smolts during the transition from fresh water to the marine environment. **Fisheries Management and Ecology**, v. 15, n. 5-6, p. 385-392, 2008.

OLVIER, H. M., MOON, B. R. The effects of atrazine on spotted salamander embryos and their symbiotic alga. **Ecotoxicology**, 2010.

OPUTE, P. A., OBOH, I. P. Effects of Lethal Sub-Concentrations of Atrazine on Embryogenesis, Larval Survival and Growth of African Catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). **Aquaculture Studies**, 21(1), 01-09, 2020.

PARRA-ARROYO L., *et al.* Highly hazardous pesticides and related pollutants: Toxicological, regulatory, and analytical aspects. **Sci Total Environ**. 2022.

PERRY, M. J. *et al.* Urinalysis of atrazine exposure in farm pesticide applicators. **Toxicol Ind Health**; 16: 285 – 90, 2001.

RIMAYI C., *et al.* Effects of environmentally relevant sub-chronic atrazine concentrations on African clawed frog (*Xenopus laevis*) survival, growth and male gonad development. **Aquat Toxicol.** v.199, p. 1-11, 2018.

ROHR, J. R., *et al.* Exposure, postexposure, and density-mediated effects of atrazine on amphibians: breaking down net effects into their parts. **Environ Health Perspect**, v. 114(1), p 46-50, 2006.

ROHR, J. R., MCCOY, K. A. A qualitative meta-analysis reveals consistent effects of atrazine on freshwater fish and amphibians. **Environmental health perspectives**, v. 118, n. 1, p. 20-32, 2010.

ROHR, J. R. The atrazine saga and its importance to the future of toxicology, science, and environmental and human health. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 6, p. 1544-1558, 2021.

ROWE, A. M., BRUNDAGE, K. M., BARNETT, J. B. Developmental immunotoxicity of atrazine in rodents. **Basic Clin Pharmacol Toxicol.**, v. 102 (2), p. 139-45, 2008.

SAALFELD, G. Q., *et al.* Atrazine exposure in gestation and breastfeeding affects *Calomys laucha* sperm cells. **Environ Sci Pollut Res Int.**, v. 26 (34), p. 34953-34963, 2019.

SAI, L., *et al.* Assessing atrazine-induced toxicities in *Bufo bufo gargarizans Cantor*. **Bull Environ Contam Toxicol.**, 2015.

SIFKAROVSKI, J., *et al.* Negative effects of low dose atrazine exposure on the development of effective immunity to FV3 in *Xenopus laevis*. **Dev Comp Immunol.**, 2014.

SILVEYRA, G.R., *et al.* Effects of atrazine on ovarian growth, in the estuarine crab *Neohelice granulata*. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.**, 2017.

SINGH, S., *et al.* Toxicity, degradation and analysis of the herbicide atrazine. **Environ Chem Lett.**, v. 16, p. 211–237, 2018.

TORSKE M.O; *et al.* Anxiety and depression symptoms among farmers: the HUNT study, Norway. **J. Agromed.**, 21 (1), pp. 24-33, 2016.

TRACHANTONG, W., *et al.* Effects of atrazine herbicide on metamorphosis and gonadal development of *Hoplobatrachus rugulosus*. **Maejo Int. J. Sci. Technol.**, 2013.

TUDI, M., *et al.* Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, 2021.

URSELER N., *et al.* Atrazine pollution in groundwater and raw bovine milk: Water quality, bioaccumulation and human risk assessment. **Sci Total Environ.**, 2022.

VAN MAELE-FABRY, G., *et al.* Residential exposure to pesticides and childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis. **Environ Int.** 37:280–291, 2011.

WALLACE, B.C., *et al.* OpenMEE: intuitive, open-source software for meta-analysis in ecology and evolutionary biology. **Methods Ecol. Evol.**, 8, 941–947., 2017.

WANG H., *et al.* Effects of Atrazine on the Development of Neural System of Zebrafish, *Danio rerio*. **Biomed Res Int.**, 2015.

WANG S., *et al.* Atrazine exposure in zebrafish induces aberrant genome-wide methylation. **Neurotoxicol Teratol**, 2022.

WHITFORD, F., *et al.* Pesticide Toxicology: **Evaluating Safety and Risk.**, 2003.

WINDLE, S., *et al.* Atrazine and estradiol effects on development of *Acris blanchardi* (Blanchard's cricket frog) exposed in outdoor enclosures. **Pest Manag Sci.**, 2022.

WRUBLESWSKI, J., *et al.* Acute and chronic toxicity of pesticides on tadpoles of *Physalaemus cuvieri* (*Anura, Leptodactylidae*). **Ecotoxicology**, v. 27, p. 360-368, 2018.

YOON, D.S., *et al.* Effects of atrazine on life parameters, oxidative stress, and ecdysteroid biosynthetic pathway in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Aquat Toxicol.**, 2019.

ZAYA, R. M., *et al.* Atrazine exposure affects growth, body condition and liver health in *Xenopus laevis* tadpoles. **Aquat Toxicol.**, 2011.

ZHANG X., *et al.* An Eco-and User-Friendly Herbicide. **J Agric Food Chem.**, v. 67 (28), p. 7783-7792, 2019.